Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo de Souza
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista
(Organizadores)



Investigación, tecnología e innovación EN CIENCIAS AGRÍCOLAS 3

Atena Editora
Ano 2022

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo de Souza
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista
(Organizadores)



Investigación, tecnología e innovación EN CIENCIAS AGRÍCOLAS 3

Atena Editora
Ano 2022

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Bruno Oliveira
Camila Alves de Cremo
Daphynny Pamplona
Luiza Alves Batista
Natália Sandrini de Azevedo
Imagens da capa
iStock
Edição de arte
Luiza Alves Batista

Diagramação:	Camila Alves de Cremo
Correção:	Maiara Ferreira
Indexação:	Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão:	Os autores
Organizadores:	Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos Luiz Alberto Melo De Sousa Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

I62 Investigación, tecnología e innovación en ciencias agrícolas 3 / Organizadores Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos, Luiz Alberto Melo De Sousa, Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2022.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-0454-5
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.545220208

1. Ciencias agrícolas. I. Silva-Matos, Raissa Rachel Salustriano da (Organizadora). II. Sousa, Luiz Alberto Melo De (Organizador). III. Evangelista, Raimundo Cleidson Oliveira (Organizador). IV. Título.

CDD 338.1

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

CIÊNCIAS AGRÁRIAS

Atena Editora
Ano 2022

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

A Atena Editora declara, para os devidos fins de direito, que: 1. A presente publicação constitui apenas transferência temporária dos direitos autorais, direito sobre a publicação, inclusive não constitui responsabilidade solidária na criação dos manuscritos publicados, nos termos previstos na Lei sobre direitos autorais (Lei 9610/98), no art. 184 do Código Penal e no art. 927 do Código Civil; 2. Autoriza e incentiva os autores a assinarem contratos com repositórios institucionais, com fins exclusivos de divulgação da obra, desde que com o devido reconhecimento de autoria e edição e sem qualquer finalidade comercial; 3. Todos os e-book são *open access, desta forma* não os comercializa em seu site, sites parceiros, plataformas de *e-commerce,* ou qualquer outro meio virtual ou físico, portanto, está isenta de repasses de direitos autorais aos autores; 4. Todos os membros do conselho editorial são doutores e vinculados a instituições de ensino superior públicas, conforme recomendação da CAPES para obtenção do Qualis livro; 5. Não cede, comercializa ou autoriza a utilização dos nomes e e-mails dos autores, bem como nenhum outro dado dos mesmos, para qualquer finalidade que não o escopo da divulgação desta obra.

APRESENTAÇÃO

O processo que decorre sobre a investigação científica ocorre concomitantemente a necessidade de solucionar problemas e encontrar respostas para métodos que necessitam ser validados junto a fenômenos que requerem explicações assertivas e com bases sólidas. Desta forma, a importância do método científico está assegurada à uma constante carência de respostas e confirmações não sustentadas apenas pelo empirismo.

Existe uma grande necessidade de soluções que possam solucionar a demanda por alimentos, criada com o crescente aumento populacional. Uma das principais preocupações para os próximos anos será aumentar a produtividade sem aumentar o espaço produzido, tornando a agricultura mais sustentável e isto será fruto de investigações científicas, por exemplo.

Por isso, é inevitável notar que grandes são os desafios para tornar a agricultura mais pujante e eficaz, respeitando o meio ambiente e conseguindo suprir as demandas da sociedade. Para isso, há muito tempo pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o objetivo de colaborar para o aprimoramento das atividades agrícolas, em busca de um equilíbrio constante entre os elos.

Desta forma, nota-se a importância do questionamento dentro do processo investigativo. As respostas obtidas através destes métodos são de suma importância, pois, muitas vezes, acabam por derivar elucidações significativas para as demandas existentes.

Portanto, a presente obra traz em sua composição pesquisas inovadoras com o intuito de difundir ideias relevantes para o cenário agrícola mundial, com informações de considerável valor para leitores, no que se refere a inovações tecnológicas e outros assuntos.

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Luiz Alberto Melo De Sousa
Raimundo Cleidson Oliveira Evangelista

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1

ÁCIDOS ORGÂNICOS PARA MELHORAR A GERMINAÇÃO E PROTEÇÃO CONTRA *Fusarium* sp

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissão: 07/06/2022

Yareni Anaya Flores
Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Genómica Alimentaria
Sahuayo, Michoacán, México

Jesus Magallon Alcazar
Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR-IPN Unidad Michoacán
Sahuayo, Michoacán, México

Mariana Corona Márquez
Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Genómica Alimentaria
Sahuayo, Michoacán, México

Jessica Guadalupe Zepeda García
Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Genómica Alimentaria
Sahuayo, Michoacán, México

Gabriela Espinoza Gálvez
Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Genómica Alimentaria
Sahuayo, Michoacán, México

Isaac Zepeda Jazo
Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Genómica Alimentaria
Sahuayo, Michoacán, México
ORCID ID – 0000-0003-2606-4662

ORGANIC ACIDS TO IMPROVE GERMINATION AND PROTECTION AGAINST *Fusarium* sp

ABSTRACT: Phytopathogens of the genus *Fusarium* are a current problem in crops, they reduce the normal growth of the plant and in early infections from the seed, they can cause seedling death. Organic acids have been shown to be capable of inhibiting the development of various microorganisms. For this reason, the objective of this work was to test acetic or lactic acids on *in vitro* radial growth of a strain of *Fusarium* sp. and evaluate its effect on the germination of four vegetable species. The experiment consisted of four plant varieties of vegetables subjected to treatments in sterile distilled water: glacial acetic acid 0.05% and 0.1%; lactic acid 0.5% and 1% and only water as a control, after three days of germination, germinated seeds were counted and their roots length measured. To assess radial growth inhibition, portions of the fungal culture were placed in petri dishes containing ADS medium plus organic acid treatments. The data confirm the fungicidal capacity of organic acids, showing the highest percentage of inhibition with Lactic Acid at 1.0%. In addition, the germination test showed favoring the percentage of germination and seedling growth on tomato Cherry specie. Based on our analysis, the 0.1% Acetic Acid treatment proved to be the most effective alternative to protect the seedling from being attacked by *Fusaruim* sp.

KEYWORDS: Inhibition, fungi, scarification.

1 I INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de hortalizas se ha convertido en una de las principales fuentes de ingresos para la agricultura pues a partir del año 2006 hubo un incremento en el área destinada para su producción abarcando más del 90 por ciento de las exportaciones dentro del sector agrícola (SAGARPA, 2008), y según el CEDRSSA en 2020 México entró dentro del top 10 mundialmente como productor y exportador de alimentos. En este sentido las hortalizas tienen un papel fundamental tanto en la economía como en la dieta de las personas, sin embargo, la producción de estas se ve amenazado año tras año por plagas y enfermedades, entre ellas las ocasionadas por hongos fitopatógenos del género *Fusarium* debido a que reducen el crecimiento normal de la planta y en infecciones tempranas desde la semilla, pueden ocasionar la muerte de la plántula. Al ser un habitante del suelo *Fusarium* es difícil de manejar y puede permanecer en el campo por tiempo indefinido, aunado a las malas prácticas agrícolas como los monocultivos sin rotación, la población del hongo aumenta y por ende la incidencia de la enfermedad (Vásquez-Ramírez y Castaño-Zapata, 2017).

Ha sido ampliamente demostrado que los ácidos orgánicos incrementan la tasa y el porcentaje de germinación de semillas, estimulan el crecimiento de las plantas, promueven el desarrollo del sistema de raíces, aumentan el rendimiento de la biomasa y brindan muchos beneficios que la ciencia apenas comienza a comprender, además, los ácidos orgánicos se presentan como una alternativa antimicrobiana (van der Wolf *et al*., 2008) y al uso de fungicidas convencionales, pues diversos estudios como el de Peyer *et al*. en 2016, demostraron la eficacia en la inhibición *in vitro* de los ácidos orgánicos contra *Fusarium*, en dicho estudio agregaron extractos de mosto fermentado con bacterias acido lácticas en placas Petri con *Fusarium* para evaluar el nivel de inhibición, cabe señalar que en dicho extracto predominaba la presencia de ácidos orgánicos como el acético y el láctico. Además, otro de los posibles beneficios de los ácidos orgánicos es la mejora en la germinación, mediante pretratamiento de imbibición en soluciones de ácidos orgánicos (García-Osuna *et al*., 2015). En este trabajo se pretende demostrar la eficacia en la mejora del porcentaje de germinación en semillas de diversas hortalizas con pretratamientos de ácido láctico y ácido acético, así como su posible efecto inhibitorio ante *Fusarium*.

2 I MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Tratamientos de las semillas

Se utilizaron cuatro tipos de semillas certificadas Lechuga romana (*Lactuca sativa*), jitomate bola (*Lycopersicon esculentum*), jitomate Cherry (*Solanum lycopersicum* var. Cerasiforme) y rábano largo rojo (*Raphanus sativus* L). Se sometieron a cinco tratamientos: ácido acético glacial (AA) 0.05%, ácido acético glacial 0.1%, ácido láctico (AL) 0.5%,

ácido láctico 1% y agua destilada estéril como control (tres repeticiones). Se tomaron tres semillas de cada variedad por cada tratamiento y se sumergieron en 5 ml de sus respectivos tratamientos manteniéndose en agitación por una hora a 150 rpm en un agitador orbital.

2.2 Técnica de germinación

Se colocaron las semillas entre dos toallas de papel dentro de un recipiente de plástico (técnica de "sándwich") con 500 ml de agua destilada estéril, cuidando que las semillas no estuvieran sumergidas en el agua, sino que mediante la capilaridad de las toallas de papel las semillas puedan obtener la humedad necesaria para germinar. Posteriormente todos los recipientes fueron colocados en la cámara de crecimiento con una humedad de 85±5 % y una temperatura de 26±1°C en una oscuridad total por tres días. Para conocer los efectos de los tratamientos se calculó el porcentaje de germinación y se midió el crecimiento de la raíz.

2.3 Efecto fungicida

Se utilizaron los mismos cinco tratamientos en medio ADS (cinco repeticiones): ácido acético glacial (AA) 0.05%, ácido acético glacial 0.1%, ácido láctico (AL) 0.5%, ácido láctico 1% y agua destilada estéril como control, para evaluar el crecimiento radial del hongo *Fusarium* sp. Para la medición de crecimiento radial se cortaron círculos de 0.25 cm de diámetro de medio con *Fusarium* sp. y se colocaron en el centro de cajas Petri con en medio ADS en forma invertida para que el hongo estuviera en contacto con el medio. Se midió el crecimiento radial con una regla vernier cada 24h hasta que el tratamiento control con *Fusarium* sp. completo su crecimiento.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Germinación

Con las semillas de tomate Cherry se obtuvo un aumento considerable en el porcentaje de germinación en todos los tratamientos, por el contrario, en el resto de las hortalizas no hubo diferencias aparentes respecto a los controles a excepción del tomate bola, el cuál presentó una disminución en el porcentaje de germinación en la mayoría de los tratamientos (figura 1). La mejora en la germinación puede deberse a la escarificación ácida, la cual ayuda a degradar la superficie de la cubierta de las semillas y así permitir que se lleve a cabo más fácilmente la imbibición, por otro lado, la variación de resultados entre las diferentes hortalizas podría corresponder a que la superficie de las semillas es compleja y distinta entre las diferentes variedades pues pueden presentar diversas topografías y niveles de rugosidad en sus superficies, por lo tanto, el éxito y velocidad de germinación depende en gran medida de la morfología de la semilla y el tiempo de exposición a los ácidos orgánicos (Pandrangi *et al*., 2003; Fransisca y Feng, 2012).

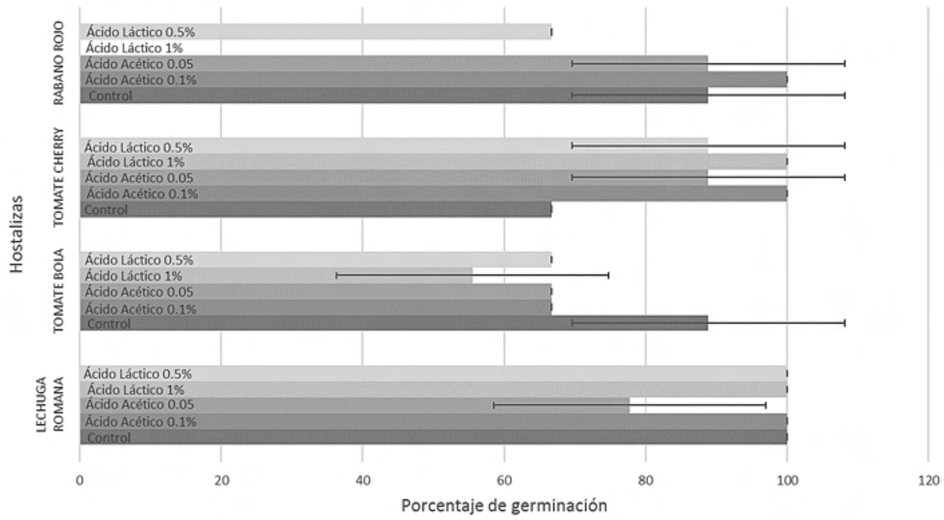


Figura 1. Porcentaje de germinación de diversas hortalizas (lechuga romana, tomate bola, tomate Cherry y rábano rojo) con distintos tratamientos de ácidos orgánicos (ácido acético 0.1%, ácido acético 0.05%, ácido láctico 1% y ácido láctico 0.5%).

Se observó un ligero aumento en la longitud de las raíces de tomate bola y rábano rojo en respuesta al ácido acético (figura 2), y esto podría deberse a una estimulación en la reparación de las membranas del embrión dentro de las semillas al momento de la imbibición (Donaldson, 1976). Sin embargo, se nota una tendencia en los tratamientos con ácido láctico en los cuales se presenta una disminución significativa en algunas de las hortalizas que incluso llegó a inhibir por completo la germinación en las semillas de rábano rojo (figura 3).

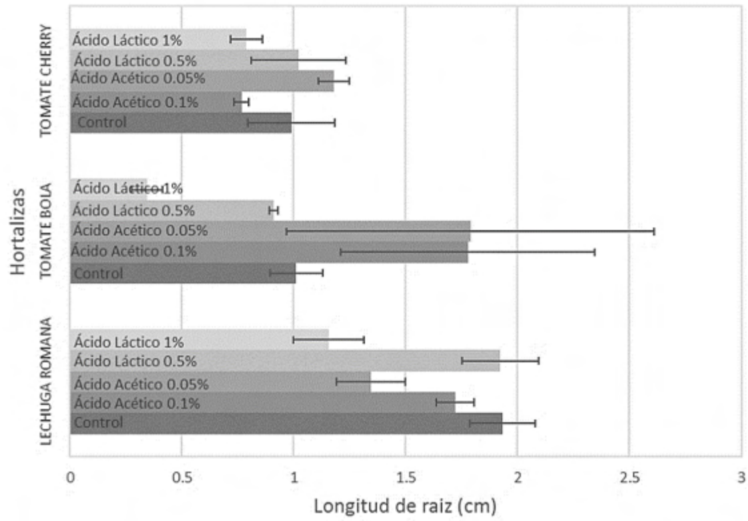


Figura 2. Longitud de la raíz de lechuga romana, tomate bola y tomate Cherry con distintos tratamientos de ácidos orgánicos (ácido acético 0.1%, ácido acético 0.05%, ácido láctico 1% y ácido láctico 0.5%).

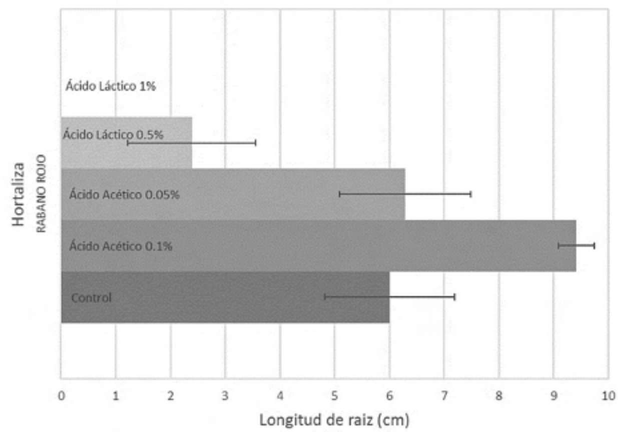


Figura 3. Longitud de la raíz de rábano rojo con distintos tratamientos de ácidos orgánicos (ácido acético 0.1%, ácido acético 0.05%, ácido láctico 1% y ácido láctico 0.5%).

3.2 Inhibición de *Fusarium* sp.

Todos los tratamientos exceptuando el ácido acético 0.05% tuvieron mayores niveles de inhibición *in vitro* ante *Fusarium* sp. teniendo los mejores resultados ambas concentraciones de ácido láctico (figura 4), sin embargo, según lo reportado por Guimaraes *et al*. en 2018 el ácido orgánico con mejor efecto inhibitorio ante estos hongos es el acético debido a que presentó una mejor respuesta con un menor nivel de concentración respecto a los demás ácidos orgánicos evaluados, lo que podría sugerir que aumentando un poco

más la concentración de ácido acético de los tratamientos aplicados en este estudio se podrían obtener mayores efectos inhibitorios.

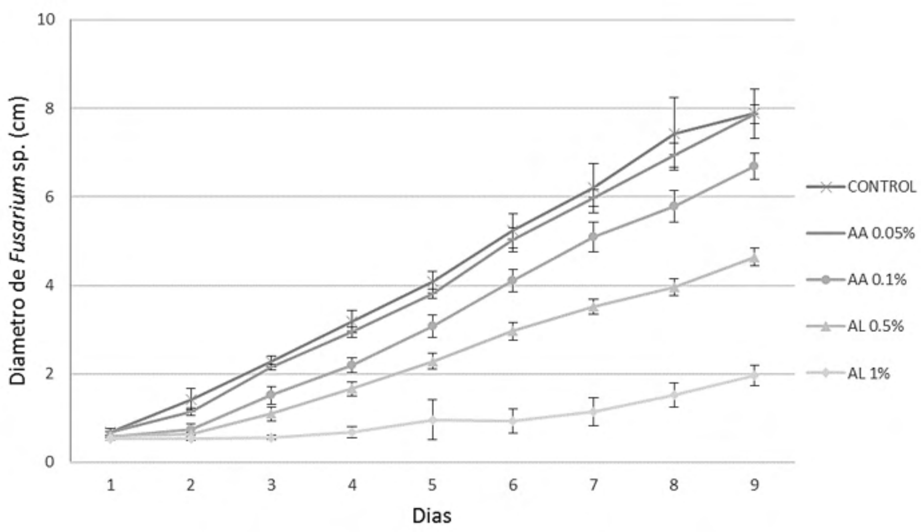


Figura 4. Efecto *in vitro* en el crecimiento radial de *Fusarium* sp. ante distintos tratamientos de ácidos orgánicos (AA, ácido acético 0.1%, ácido acético 0.05%, AL, ácido láctico 1% y ácido láctico 0.5%).

4 | CONCLUSIONES

Los ácidos orgánicos, láctico y acético tienen un efecto inhibitorio *in vitro* sobre el hongo fitopatógeno *Fusarium* sp. y pueden favorecer en ciertos casos la germinación en determinadas variedades de semillas de hortalizas y a su vez desinfectarlas y posiblemente brindar una ligera protección durante las etapas tempranas de crecimiento, estudios posteriores son necesarios para validar estas técnicas con otros cultivos, concentraciones y cepas de hongos.

REFERENCIAS

Donaldson, R. (1976) *Membrane lipid metabohsm in germinating castor bean endosperm.* Plant Physiology, 57, 510-515.

Fransisca, L. & Feng, Hao (2012). *Effect of Surface Roughness on Inactivation of Escherichia coli 87-23 by New Organic Acid–Surfactant Combinations on Alfalfa, Broccoli, and Radish Seeds.* Journal of Food Protection, 75(2), 261-269.

García-Osuna, H., Escobedo-Bocardo, L., Robledo-Torres, V., Benavides-Mendoza, A. & Ramírez-Godina, F. (2015). *Germinación y micropropagación de tomate de cáscara (Physalis ixocarpa) tetraploide.* Revista mexicana de ciencias agrícolas, 6(12), 2301-2311.

Guimarães, A., Venâncio, A. & Abrunhosa, L. (2018). *Antifungal effect of organic acids from lactic acid bacteria on Penicillium nordicum.* Food Additives & Contaminants: Part A, 19440049.2018.1500718.

Peyer, L., Axel, C., Lynch, K., Zannini, E., Jacob, F. & Arendt, E. (2016*). Inhibition of Fusarium culmorum by carboxylic acids released from lactic acid bacteria in a barley malt substrate*. Food Control, 69, 227-236.

Pandrangi, S., Elwell, M., Anantheswaran, R. & Laborde, L. (2003). *Efficacy of Sulfuric Acid Scarification and Disinfectant Treatments in Eliminating Escherichia coli from Alfalfa Seeds Prior to Sprouting*. Journal of Food Science, 68(2), 613-617.

SAGARPA (2008). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca, y Alimentación.

van der Wolf, J.M., Bimbaum, Y., van der Zouwen, P.S. & Groot, S.P.C. (2008). *Disinfection of vegetable seed by treatment with essential oils, organic acids and plant extracts*. Seed Sci. & Technol., 36, 76-88.

Vásquez-Ramírez, L. & Castaño-Zapata, J. (2017). *Manejo integrado de la marchitez vascular del tomate [Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (SACC.) Snyder, W. &. Hansen, H.]: una revisión. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 20(2), 363-374.

CAPÍTULO 2

ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *IN VITRO* DE UN AISLADO DE *Bacillus subtilis* CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS

Data de aceite: 19/07/2022

Paul Edgardo Regalado-Infante
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana
Amatlán de los Reyes
Veracruz, México
https://orcid.org/0000-0003-2420-9856

Norma Gabriela Rojas- Avelizapa
Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. Instituto Politécnico Nacional
Querétaro, México
https://orcid.org/0000-0001-5349-4612

Rosalía Núñez Pastrana
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana
Amatlán de los Reyes
Veracruz, México
https://orcid.org/0000-0001-9695-9221

Daniel Tapia Maruri
Centro de Desarrollo de Productos Bioticos. Instituto Politécnico Nacional
Morelos, México
https://orcid.org/0000-0002-5468-5012

Gabriela Lucero Cuatra Xicalhua
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana
Amatlán de los Reyes
Veracruz, México
https://orcid.org/0000-0003-4489-7342

Régulo Carlos Llarena Hernandez
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana
Amatlán de los Reyes
Veracruz, México
https://orcid.org/0000-0003-1481-3478

Luz Irene Rojas-Avelizapa
Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Universidad Veracruzana
Amatlán de los Reyes
Veracruz, México
https://orcid.org/0000-0003-2224-3663

RESUMEN: Las prácticas actuales para el control de enfermedades causadas por hongos fitopatógenos en los cultivos agrícolas, se basan en la resistencia genética de la planta huésped y su manejo mediante compuestos químicos, sin embargo, debido a la alta toxicidad y los severos daños que algunos de éstos ocasionan a la salud humana, se requiere un replanteamiento de las técnicas para el control de tales enfermedades, sustituyéndolos con materiales altamente específicos contra los fitopatógenos, que sean de fácil degradación, y bajo costo de producción. El presente trabajo tuvo como objetivo el aislamiento de bacterias del género *Bacillus* provenientes de la rizósfera, con capacidad de inhibir el crecimiento de hongos fitopatógenos y que pertenecieran al grupo de las bacterias promotoras del crecimiento vegetal. Dichos microorganismos fueron identificados como *Bacillus subtilis* mediante pruebas morfológicas, fenotípicas y bioquímicas. Se obtuvieron 62 aislados bacterianos, con los que se hicieron

ensayos de su actividad antagónica, en placas con papa dextrosa agar a 28°C contra *Colletotrichum falcatum, Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia* sp., *Helminthosporium* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotinia* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Bipolaris* sp., *Microcyclus* sp., *Alternaria* sp. *y Pestalotia sp***.** La capacidad antagónica de cada bacteria fue evaluada contra todos los hongos blanco. La bacteria denominada Bs LM1, fue la que presentó una mayor inhibición del crecimiento fúngico (60-70%) en todos los casos. Esta se identificó por pruebas bioquímicas y morfológicas como *Bacillus subtilis* y mostró ser promotora del crecimiento vegetal pues produce ácido indol acético y solubiliza el fosfato tricálcico.
PALABRAS CLAVE: Actividad antagónica, hongos fitopatógenos, *Bacillus*.

ANTAGONIC ACTIVITY *IN VITRO* OF AN ISOLATED OF *Bacillus subtilis* AGAINST PHYTOPATHOGENIC FUNGI

ABSTRACT: Current practices for diseases control produced by phytopathogenic fungi in agricultural crops are based on the genetic resistance of the host plant and its management through chemical compounds, however, due to the high toxicity and severe damage that some of them cause to human health, a reconsidering of the techniques for the control of such diseases is required, substituting them with highly specific materials against phytopathogens, which are easy to degrade and have low cost production. The objective of this work was to isolate bacteria of the genus Bacillus from the rhizosphere, with the ability to inhibit the growth of phytopathogenic fungi belonging to the group of plant growth promoting bacteria. These microorganisms were identified as Bacillus subtilis through morphological, phenotypic and biochemical tests. Sixty-two bacterial isolates were obtained, which were evaluated by their antagonistic activity against *Colletotrichum falcatum, Colletotrichum gloeosporioides*, *Rhizoctonia* sp., *Helminthosporium* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotinia* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Bipolaris* sp., *Microcyclus* sp., *Alternaria* sp. and *Pestalotia* sp , on plates added with potato dextrose agar at 28°C. The antagonistic capacity of each bacterium was evaluated against all the target fungi. The bacterium called Bs LM1, was the one that presented a greater inhibition of fungal growth (60-70%) in all cases. This was identified by biochemical and morphological tests as Bacillus subtilis and demonstrated to be a promoter of plant growth since it produces indole acetic acid and solubilizes tricalcium phosphate.
KEYWORDS: Antagonistic activity, phytopathogenic fungi, *Bacillus.*

1 | INTRODUCCIÓN

Como todos los organismos vivos las plantas deben enfrentarse a enfermedades, que pueden ser de menor importancia si causan sólo la reducción de su capacidad de crecimiento, o pueden ser mucho más graves que conducen a su muerte, en el peor de los casos. Los patógenos más importantes que causan elevadas pérdidas de frutas y hortalizas son normalmente las bacterias y los hongos; sin embargo, son éstos los que con mayor frecuencia causan deterioro patológico de hojas, frutos, tallos y productos subterráneos (raíces, tubérculos, cormos, etcétera) de los diferentes cultivos (Juárez-Becerra *et al*., 2010).

Actualmente el método mayormente utilizado en la agricultura es el control químico, que se basa en la represión de poblaciones de plagas y enfermedades, o en la prevención de su desarrollo mediante sustancias químicas. A este tipo de control se le ha considerado el de mayor difusión, debido a que ha sido impulsado por empresas comerciales, ya que se emplea tecnología de fácil adopción y da resultados en corto plazo (Álvarez-Gómez, 2012). Sin embargo, la incorrecta aplicación de tales compuestos ha tenido consecuencias graves como: suelos pobres en materia orgánica, bajo contenido de nutrientes disponibles, así como bajas poblaciones microbianas, tomando en cuenta que estas condiciones desfavorables del suelo influyen en el crecimiento de las plantas y en la aparición y gravedad de las enfermedades. Su uso indiscriminado afecta todo el ecosistema, suelo, aire, agua, organismos benéficos así como patógenos, incluso al ser humano (González, 2011).

El control biológico nace de la búsqueda de alternativas al control químico, para combatir las enfermedades causadas por bacterias y hongos en las plantas, debido a que durante los últimos años se han reportado patógenos resistentes a los germicidas. Esto ha impulsado la investigación de prácticas alternativas viables para asegurar y alcanzar niveles más sostenibles de producción agrícola.

En fitopatología, el término control biológico se aplica a la utilización de antagonistas microbianos para suprimir enfermedades; considerando al organismo que suprime al patógeno, como el agente del control biológico (Pal y Gardener, 2006). Las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal son un grupo importante de bacterias que presentan efectos antagónicos con otros microorganismos y esta acción puede ser aprovechada como una forma de control biológico de patógenos vegetales (Fernández-Larrea, 2001).

Las pérdidas de productos agrícolas debido al ataque de fitopatógenos (principalmente hongos), pueden alcanzar porcentajes significativos de la producción nacional y debido a la importancia crucial que tiene la agricultura en nuestro país, es importante la búsqueda de microorganismos útiles en el control biológico de los principales microorganismos que causan enfermedades en las plantas, que garanticen la calidad, rendimientos y productividades de los cultivos y de los productos procedentes del campo.

2 | MATERIALES Y MÉTODOS

El desarrollo experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Microbiana Louis Pasteur de la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, perteneciente a la Universidad Veracruzana (FACBA UV, Región Orizaba-Córdoba).

2.1 Aislamiento de hongos fitopatógenos

Los hongos fitopatógenos se aislaron de caña y muestras de plantas de diferentes cultivos agrícolas, todos fueron identificados morfológicamente como *Colletotrichum falcatum, Colletotrichum gloeosporioides, Rhizoctonia* sp., *Helminthosporium* sp., *Pythium* sp., *Botrytis* sp., *Sclerotinia* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Bipolaris* sp., *Microcyclus* sp.,

Alternaria sp. *y Pestalotia* sp.

2.2 Aislamientos bacterianos

Las muestras de suelos fueron obtenidas de zonas agrícolas del municipio de Amatlán de los Reyes, Veracruz. A partir de estas, se realizaron los aislamientos de microorganismos del género *Bacillus*. Para ello, cada una de las muestras se mezcló en matraces Erlenmeyer de 250 ml que contenían 10 g de suelo, con 90 ml de agua destilada estéril. Las suspensiones obtenidas se colocaron en un baño maría a 65°C durante 30 min. Por último se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en placas de agar nutritivo aquéllas de la dilución 10^{-4} a la 10^{-7}, por la técnica de la varilla acodada, dejándose en periodo de incubación en una estufa de cultivo a 28°C durante 24-48 horas para su aislamiento y purificación.

2.3 Identificación morfológica, microscópica y bioquímica de los aislados.

2.3.1 Morfología colonial

Se realizó la descripción morfológica de cada uno de los aislados de *Bacillus* seleccionados crecidos en agar nutritivo, con base en la apariencia, forma, borde, superficie, tamaño, consistencia, color y elevación de sus colonias. Esta descripción se llevó a cabo después de 24 h de crecimiento del cultivo, incubado a 28ºC.

2.3.2 Tinción de Gram

Para realizar la tinción Gram a los aislados de *Bacillus,* se utilizó el kit de Gram marca HYCEL, con el siguiente procedimiento:

1. Sobre un portaobjetos se agregó una gota de agua destilada y posteriormente se suspendió en ella una pequeña cantidad de muestra bacteriana con ayuda del asa bacteriológica estéril. 2. Se esparció la muestra en el portaobjetos. 3. Se fijó el frotis pasando cuidadosamente sobre la llama del mechero con la muestra hacia arriba. 4. Una vez fijada la muestra, se cubrió con cristal violeta durante 3 min. Se retiró el colorante mediante un lavado con agua, cuidando en todo momento de no dañar la muestra. 5. El frotis se cubrió luego con yodo- lugol durante 1 min, y después se lavó suavemente con agua. Hasta este paso todas las células quedarán teñidas de violeta. 6. Se retiró dicho colorante con alcohol-acetona, hasta que en las gotas éste dejó de salir. 7. Se cubrió la preparación con safranina durante 2 min. Y por último se realizó un lavado del colorante con agua. Por último, se secó cuidadosamente la preparación con papel filtro o dejado secar al aire, y se observó al microscopio utilizando el objetivo de inmersión (100x).

2.3.3 Tinción de esporas con verde de malaquita- fucsina

Se realizó un frotis con calor y se cubrió con verde de malaquita, calentando 5 min

hasta la emisión de vapores. Posteriormente se enjuaga con agua corriente, se escurre y finalmente se cubre con fucsina durante 1 min. Se lavó con agua corriente y se dejó secar. Observación 1000X con objetivo de inmersión.

2.3.4 Identificación bioquímica

Los aislados se caracterizaron morfológica y fisiológicamente según las pruebas descritas en el Manual de clasificación de Bergey (Claus & Berkeley,1986). Se emplearon cultivos bacterianos de 18 h y se realizaron las siguientes pruebas bioquímicas (con dos replicas para cada caso):

Producción de la enzima catalasa, posición de la espora (terminal, central o subterminal), producción de ácido a partir de glucosa, producción de gas a partir de glucosa, producción de acetoína a partir de glucosa (Voges- Proskauer), hidrolisis de gelatina, hidrolisis del almidón, utilización de citrato, crecimiento en agar anaerobio, crecimiento en NaCl al 7%, reducción de nitratos a nitritos, prueba de lecitinasa, crecimiento a 45˚C y finalmente, crecimiento a 55˚C.

Para la identificación se utilizó también el sistema API 50 CHB, para caracterizar el metabolismo de los carbohidratos de *Bacillus*. La identificación de los aislados se realizó mediante la utilización de la base de datos APILAB.

2.4 Producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal

2.4.1 Transformaciones bioquímicas del ciclo del fósforo

Se determinó sembrando mediante la técnica del punto los aislados bacterianos, en el medio de Pikovskaya (modificado, sin extracto de levadura) que contenía en 1000 mL: 10 g de glucosa; 5 g de $Ca_3(PO)_4$; 0.5 g de $(NH_4)_2SO_4$; 0.2 g de KCl; 0.1 g de $MgSO_4.7H_2O$; 0.001g de $MnSO_4.7H_2O$; 0.001 g de $FeSO_4$ y 15 g de agar bacteriológico; el pH se ajustó a 7.0 antes de su esterilización.

Si los microorganismos tienen capacidad de transformar a formas solubles el fosfato tricálcico, este se hace evidente mediante la producción de un halo alrededor de la colonia, indicativo de que el fosfato se ha solubilizado en el medio (Suliasih, 2005; Ponmuragan y Gopi, 2006).

2.4.2 Determinación de la producción de fitohormonas

La evaluación de la producción de fitohormonas se realizó sembrando por picadura un inóculo bacteriano del aislado seleccionado, en placas con agar nutritivo suplementado con triptófano (2 mg/L).

Posteriormente se colocó un disco ésteril de papel Whatman No.2 de 9 cm de diámetro, con ayuda de las pinzas de disección previamente flameadas, sobre el medio de

cultivo inoculado y se incubó a 28ºC por 24 o 48 horas, o hasta que las colonias alcanzaron un máximo de 2 mm de diámetro en su crecimiento. Finalmente, se retiró el papel filtro, depositándolo en una caja de Petri con el reactivo de Salkowsky, y se dejó 30 minutos para el desarrollo de color. Las bacterias productoras de ácido indol acético (AIA) se identificaron por la presencia de un halo rosado-rojizo en el papel filtro (Leveau, J. H. J. *et al*; 2005).

2.4.3 Producción de sideróforos

La evaluación de la producción de sideróforos se realizó sembrando por picadura un inóculo bacteriano, en placas con agar nutritivo-CAS (Cromo Azurol) y se incubaron a 28ºC durante 24 h. Posteriormente se midió el diámetro del halo producido alrededor de las colonias, y se le restó el diámetro de la colonia bacteriana, para así obtener el área del halo de producción.

3 | RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Selección de cepas bacterianas con capacidad antagónica contra hongos fitopatógenos

De los 62 aislados provenientes de los diferentes suelos agrícolas,y todos pertenecientes al género *Bacillus*, Gram positivos y productores de esporas, se seleccionaron únicamente 10 que presentaron actividad antagónica considerable contra los hongos blanco: *Colletotrichum falcatum, Rhizoctonia* sp., *Colletotrichum gloeosporioides* y *Sclerotinia* sp. De estas 10 bacterias, solo dos fueron las que presentaron una actividad antagónica mayor, mismas que fueron nombradas como B-M50 y Bs LM1.

Con ambos microorganismos se hicieron ensayos sobre su capacidad antagónica contra los 13 diferentes hongos fitopatógenos, obteniendo como resultado que Bs LM1, no solo fue el que presentó una mayor inhibición del crecimiento fúngico en todos los ensayos, sino que además inhibió a los hongos en un periodo menor de tiempo en relación a B- M50 (figura 1).

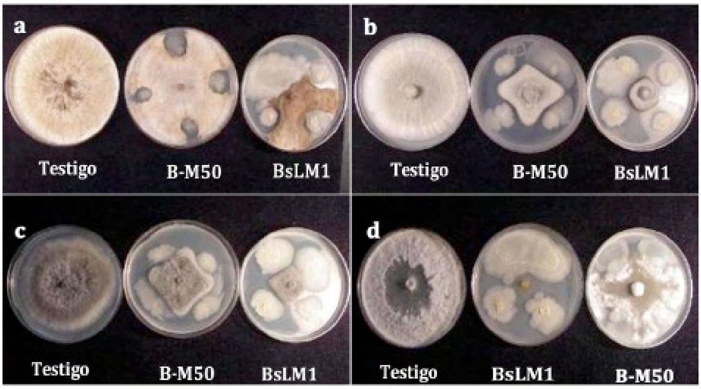


Figura 1. Ensayos de actividad antagónica de los aislados B-M50 y BsLM1 usando como hongo fitopatógeno blanco a: a) *Rhizoctonia* sp. b) *Colletotrichum falcatum* c) *Colletotrichum gloeosporioides* y d) *Sclerotinia* sp.

3.2 Capacidad antagónica de la bacteria BsLM1 contra hongos fitopatógenos

El estudio de la capacidad antagónica del aislado BsLM1 contra hongos fitopatógenos tiene por objetivo investigar su espectro inhibitorio para determinar el potencial biotecnológico que posee. En la figura 2 se puede observar se puede observar a los hongos *Colletotrichum gloeosporioides*, *Helminthosporium* sp. y *Pythium* sp., aislados de plantas de caña; los cuales presentan una inhibición del crecimiento micelial.

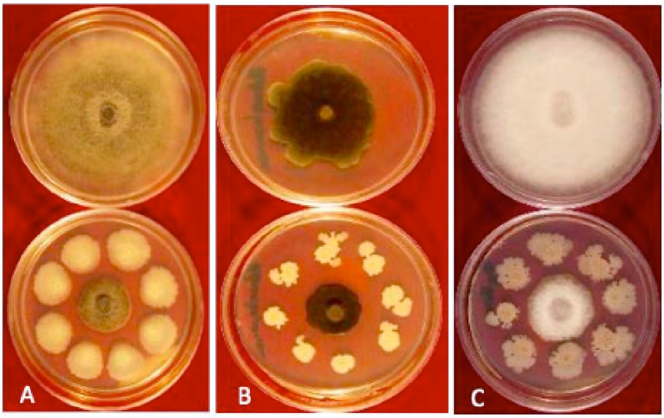


Figura 2. Fotografías que muestran la inhibición de algunos hongos filamentosos procedentes de plantas de caña enfermas. En la parte superior se muestra la placa testigo y en la inferior la placa problema. a) *Colletotrichum gloeosporioides*, b) *Helminthosporium* sp. c) *Pythium* sp.

El género *Colletotrichum* engloba varias especies que provocan enfermedades en una amplia variedad de cultivos en casi todos los climas; éste es reconocido como el agente

causal de la antracnosis, enfermedad que es muy común y destructiva de distribución mundial y puede atacar cualquier parte de la planta (Baños *et al*., 2004).

El género *Helminthosporim* agrupa patógenos importantes de los cultivos de cereales, están distribuidos ampliamente en el mundo (Plana *et al*., 2001). También la enfermedad de la sarna plateada es causada por el hongo *Helminthosporium solani* y es una enfermedad que ocurre mundialmente y el hongo ataca exclusivamente a los tubérculos (Marijke, 2009).

En tanto que *Pythium* consta de más de 120 especies descritas que varían en su patogenicidad y cultivos hospederos, que se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo. Puede vivir como saprófito sobre restos de plantas muertas o puede ser patógeno y en sistemas de producción tales como invernaderos, viveros, campos agrícolas y bosques ocasiona pudrición de semillas, ahogamiento de plántulas, pudrición de raíces, frutos y otros órganos vegetales que se encuentran en contacto con el suelo (Díaz-Celaya *et al*., 2011; Mukundi *et al*., 2009)

En la figura 3 se puede observar a los hongos *Fusarium* sp., *Botrytis* sp. y *Sclerotinia* sp., los cuales presentan una inhibición del crecimiento micelial debida a la acción del aislado BLS1. Entre los hongos del género *Fusarium,* se conocen alrededor de 78 especies, dependiendo del sistema taxonómico utilizado, el cual se basa principalmente en las características culturales de las colonias y de las esporas del hongo. Muchas especies del género *Fusarium* tienen una gran capacidad de ocasionar enfermedades en distintos tipos de plantas cultivadas (Arbeláez-Torres, 2000).

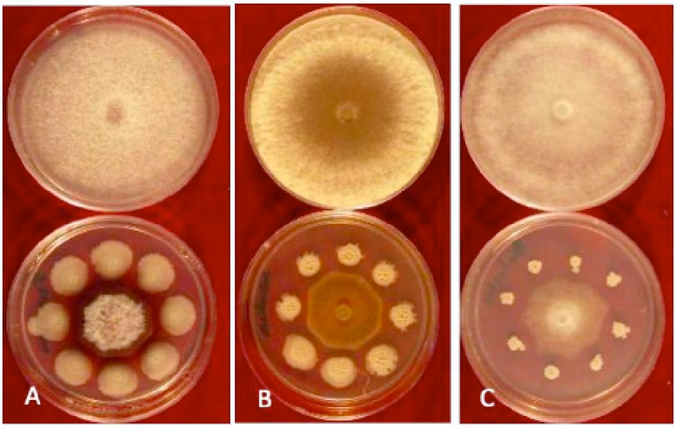


Figura 3. Fotografías que muestran la inhibición de algunos hongos filamentosos. En la parte superior se muestra la placa testigo y en la inferior la placa problema. a) *Fusarium* sp. b) *Botrytis* sp. c) *Sclerotinia* sp.

Por su parte, el género *Botrytis* afecta al menos a 235 especies de plantas de interés agronómico u ornamental (Velázquez-Becerra *et al*., 2010). *Botrytis cinerea* causa pudriciones en varios tipos de frutos menores como el arándano, frambuesa, fresa, mora,

kiwi y uva (Álvarez-Gómez, 2012; Bautista-Baños *et al*., 2001; Calvo *et al*., 2012).

En la figura 4 se puede observar a los hongos *Curvularia* sp., *Bipolaris* sp., y *Microcyclus* sp. los cuales también presentan una inhibición del crecimiento micelial debida a la acción del aislado BsLM1. Diferentes especies de *Bipolaris* causan enfermedades foliares en algunas plantas ornamentales, aunque también es posible encontrar algunos representantes produciendo afectaciones en otros cultivos de importancia económica como la caña de azúcar, el trigo, el arroz y el maíz (Rodríguez *et al*., 1997). Mientras que del género *Microcyclus*, el hongo de mayor importancia es *Microcyclus ulei* que causa la enfermedad llamada mal suramericano de la hoja del caucho o SALB por sus siglas en inglés (South American Leaf Blight) y que es una de las enfermedades más importantes del cultivo del caucho natural en América Latina.

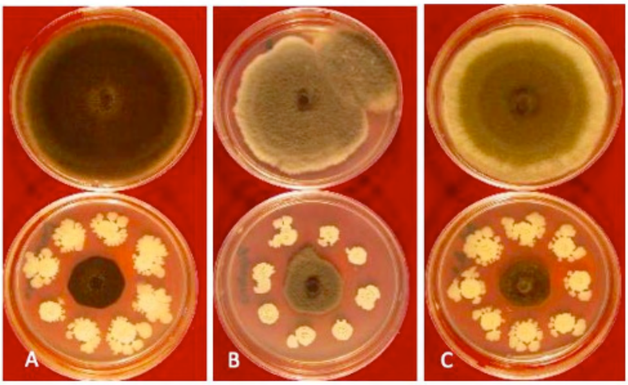


Figura 4. Fotografías que muestran la inhibición de algunos hongos filamentosos. En la parte superior se muestra la placa testigo y en la inferior la placa problema. a) *Curvularia* sp. b) *Bipolaris* sp. c) *Microcyclus* sp.

En las tablas 1 y 2 se muestran los porcentajes de inhibición y los periodos de incubación obtenidos con BsLM1.

Agente etiológico	Días de incubación	Porcentaje de inhibición
Colletotrichum falcatum	6	71.27 %
Colletotrichum gloeosporioides	6	62.67 %
Rhizoctonia sp.	3	64.38 %
Pythium sp.	7	62.50 %
Helminthosporium sp.	6	60 %

Tabla 1. Porcentajes de inhibición del crecimiento de los diferentes hongos fitopatógenos procedentes de plantas de caña enfermas por el antagonista BsLM1.

Agente etiológico	Días de incubación	Porcentaje de inhibición
Botrytis sp.	4	60.25 %
Sclerotinia sp.	3	70.34 %
Curvularia sp.	7	67.50 %
Fusarium sp.	6	60.33 %
Pestalotia sp.	6	65.33 %
Microcyclus sp.	7	68.75 %
Bipolaris sp.	6	61 %

Tabla 2. Porcentajes de inhibición del crecimiento de los diferentes hongos fitopatógenos procedentes de diferentes plantas enfermas por el antagonista BsLM1.

3.3 Identificación morfológica y bioquímica de BsLM1

Con respecto a Bs LM1, su identificación fue corroborada para determinar que efectivamente corresponde a un Bacilo Gram positivo, esporulado. Los resultados de las pruebas bioquímicas y de sistema API 50 CHB determinaron que se trata de *Bacillus subtilis*. (Tabla 3).

PRUEBAS BIOQUÍMICAS	**RESULTADOS***
Catalasa	+
Posición de la espora (terminal)	-
Central	+
Subterminal	-
Producción de ácido a partir de glucosa	+
Producción de gas a partir de glucosa	-
Producción de acetoína a partir de glucosa	+
Hidrolisis de la gelatina	+
Hidrolisis del almidón	+
Utilización de citrato de sodio	+
Crecimiento en NaCl (7%)	+
Reducción de nitrato	+
Prueba de la lecitinasa	+
Crecimiento a 55˚C	+
Crecimiento a 45˚C	+

*Todos los datos corresponden a *Bacillus subtilis.*

Tabla 3. Resultados de la caracterización bioquímica del aislado Antagonista BsLM1.

3.4 Producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal

Adicionalmente se realizaron pruebas que pudieran evidenciar si la bacteria producía sustancias promotoras del crecimiento vegetal, para así demostrar si se trataba de un microorganismo PGPR por sus siglas en inglés (promotor del crecimiento vegetal). La prueba de producción de sideróforos resultó negativa, sin embargo se encontró que BsLM1 era capaz de solubilizar el fósforo y tiene la capacidad de producir ácido indol acético.

Finalmente, *Bacillus subtilis* (BsLM1) resultó ser el aislado con mayor actividad antagónica contra los hongos fitopatógenos ensayados y aunque no existe un parámetro o norma oficial para determinar cuáles y cuantos microorganismos debieran ensayarse para establecer si una bacteria tiene o no un potencial biotecnológico elevado, para ser usada en la preparación comercial de biopreparados para el control biológico, es importante recalcar que el espectro de acción mostrado por el microorganismo estudiado es muy amplio, ya que de los 13 hongos fitopatógenos ensayados, todos presentaron una inhibición del crecimiento de entre el 60 al 70 %, con base en la metodología ensayada en este trabajo.

Cabe señalar, por otro lado, que varios autores han encontrado resultados favorables al aplicar bacterias promotoras del crecimiento vegetal como agentes de control biológico en sistemas planta-patógeno. Un ejemplo de ello es el trabajo de Paredes *et al*. (2009), donde aislaron *Trichoderma lignorum*, *T. harzianum*, *Bacillus subtilis* y *Pseudomonas fluorescens*, las cuales fueron aplicadas en cultivos de garbanzo, logrando reducir del 51 al 64% la severidad de la enfermedad ocasionada a esta leguminosa, por el complejo de hongos *Fusarium oxysporum, Sclerotium rolfsii y Rhizoctonia solani.* Por otro lado, Hernández-Castillo *et al*. (2008) realizaron investigaciones en condiciones de laboratorio, invernadero y campo, con el objetivo de analizar el efecto antifúngico de tres bacterias del género *Bacillus* contra *Rhizoctonia solani,* y de observar su efecto promotor del crecimiento en plantas de papa, obteniendo resultados satisfactorios que sugieren que las bacterias ensayadas podrían ser utilizadas para programas de control biológico contra *R. solani*.

4 I CONCLUSIONES

B. subtilis (BsLM1) fue seleccionado entre 62 bacterias aisladas, por poseer un elevado potencial biotecnológico al mostrar un amplio espectro de actividad antagónica contra 13 hongos fitopatógenos de interés agrícola. Aunque BsLM1 no produce sideróforos, **sí** solubiliza el fosfato tricálcico y produce **ácido indol** acétco (AIA), por lo tanto se trata de una bacteria que promueve el crecimiento vegetal (PGPR) y representa por lo tanto, una interesante opción para el control de hongos fitopatógenos, lo pudiera coadyuvar en la disminución del uso de químicos en cultivos agrícolas y evitaría mayores daños al ambiente y a la salud humana, aunado a que evitaría grandes pérdidas económicas desde el punto de vista agrícola.

REFERENCIAS

Álvarez-Gómez, T. B. (2012). **Biocontrol de *Botrytis cinerea* a partir de extractos fenólicos de fresa.** *Tesis de Maestría*. CIIDIR-IPN-Unidad Michoacán, México. 132.

Arbeláez-Torres, G. (2000). **Some aspects of *Fusarium* genus and the *Fusarium oxysporum* species.** Agronomía Colombiana. 17:11-22.

Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L., Long, P. G., Ganesh, S. Cheah, L. H. (2001). **Inoculum Variables affecting pathogenicity of *Botrytis cinerea* infection of kiwifruit.** Revista Mexicana de Fitopatología. 19:161-167.

Claus, D. and R.C.W. Berkeley. (1986). **Genus *Bacillus.* Bergey's Manual of Systematic Bacteriology** (Eds. P. H. Sneath, N. Mair, M. E. Sharpe and J.G. Holt, Baltimore, Williams & Wilkins, 9na.Edición. 2:1105–1139.

Díaz-Celaya, M., Rodríguez-Alvarado, G., Silva-Rojas, H. V., Pedraza-Santos, M. E., Salgado-Garciglia, R. Fernández-Pavía, S. P. (2011). **Identificación de especies de *Pythium* aisladas de plantas ornamentales.** Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 3:431-443.

Fernández-Larrea, O. 2001. **Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas.** 62:96-100.

González, I., Infante, D., Peteira, B., Martínez, B., Arias, Y., González, N., Miranda, I. (2011). **Protección Vegetal.** 26:23-29.

Hernández-Castillo FD, R.H Lira-Saldivar, L. Cruz-Chavez., G. Gallegos-Morale M.E., Galindo- Cepeda P. (2008). **Potencial antifungico de cepas de *Bacillus spp.* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa.** Revista Internacional de Botánica experimental 77: 241-252.

Juárez-Becerra, G. P., Sosa-Morales M.E., López-Malo A. (2010). **Hongos fitopatógenos de alta importancia económica: descripción i métodos de control.** Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. 4:14-23.

Leveau, J. H. Lindow S.E. (2005). **Utilization of the plant hormone indole-3-acetic acid for growth by *Pseudomonas putida* strain** 1290. Applied and Environmental Microbiology. 71:2365-2371.

Marijke, H. L. (2009). **La sarna plateada (*Helminthosporium solani* (Dur. & Mont.), una enfermedad de creciente importancia en papa.** Agronomía Mesoamericana. 20:417-431.

Mukundi, N. D., Okoth S. A., Mibey, R. K. (2009). **Influence of land use on the distribution and diversity of *Pythium* spp.** Tropical and Subtropical Agroecosystems. 11.347-352.

Pal, K., Gardener, M.B. (2006). **Biological Control of Plant Pathogens.** The plant health instructor. 2:1117-1142.

Paredes-Mendoza, M. A, Espinosa-Victoria, D. (2009). **Ácidos orgánicos producidos por rizobacterias que solubilizan fosfato: una revisión crítica.** Terra Latinoamericana. 28:61-70.

Plana, R., Alvarez, M., Moreno, I., Ramírez, A., Caballero, A. (2001). **Evaluación de una colección de variedades de trigo (*Triticum aestivum*) resistentes a *Helminthosporium sativum* en el occidente de Cuba.** Cultivos Tropicales. 22:29-31.

Ponmurugan, P., Gopi, C. (2006). **Distribution Pattern and Screening of Phosphate Solubilizing Bacteria Isolated from Different Food and Forage Crops.** Journal of Agronomy. 4:600-604.

Rodriguez, F., Pfender, W. F. (1997). **Antibiosis and Antagonism of *Sclerotinia homoeocarpa* and *Drechslerapoae* by *Pseudomonas fluorescens* PF-5 in vitroand in plant.** Phytopathology. 87:614–621.

alad

Suliasih, S. W. (2005). **Isolation and Identification of Phosphate Solubilizing and Nitrogen Fixing Bacteria from Soil in Wamena Biological Garden, Jayawijaya, Papua.** Biodiversitas, 6(5):175-177.

Velázquez-Becerra, C., Macías-Rodríguez, L. I., López-Bucio, J., Flores-Cortez, I., Santoyo-Pizano, G. & Valencia-Cantero, E. (2010). **Actividad inhibitoria del compuesto volátil bacteriano dimetilhexadecilamina sobre Fitopatógenos.** Biológicas. 12:96–101.

CAPÍTULO 3

ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE POLIEXTRACTOS DE PLANTAS MEDICINALES EN BACTERIAS ASOCIADAS A INFECCIONES RESPIRATORIAS AGUDAS (IRAS)

Data de aceite: 19/07/2022

Rosa Iris Mayo Tadeo
Universidad Autónoma de Guerrero; Facultad de Ciencias Químico Biológicas y Biomédicas; CU (Ciudad Universitaria)

Mónica Espinoza Rojo
Universidad Autónoma de Guerrero; Facultad de Ciencias Químico Biológicas y Biomédicas; CU (Ciudad Universitaria)

Javier Jiménez Hernández
Universidad Autónoma de Guerrero; Facultad de Ciencias Químico Biológicas y Biomédicas; CU (Ciudad Universitaria)

Flaviano Godinez Jaimes
Universidad Autónoma de Guerrero Facultad de Matemáticas

Agustín Damián Nava
Universidad Autónoma de Guerrero Facultad de Ciencias Agrícolas y Ambientales, Iguala de la Independencia Guerrero, México

Dolores Vargas Álvarez
Universidad Autónoma de Guerrero; Facultad de Ciencias Químico Biológicas y Biomédicas; CU (Ciudad Universitaria)

RESUMEN: El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo el modelaje para la elaboración de la formulación de un jarabe a base de extractos vegetales de bugambilia, eucalipto, canela, caléndula e itamo para inhibir el crecimiento de *S. aureus y S. pyogenes*, bacterias asociadas con las infecciones respiratorias. Determinando los metabolitos secundarios presentes en los extractos metanólicos de cada especie, así como también evaluando la actividad antibacteriana de los extractos y de los jarabes, y su capacidad antioxidante. Se encontró que el extracto de eucalipto es el mejor para inhibir a las bacterias, al igual que en su forma de jarabe, y el extracto de canela es el mejor antioxidante.
PALABRAS CLAVE: Actividad antibacteriana, actividad antioxidante, extractos vegetales, metabolitos secundarios**.**

ABSTRACT: This research work was focused on the development of the formulation of a syrup based plant extracts of bougainvillea, cinnamon, calendula, eucalyptus and ítamo to inhibit growth of *S. aureus* and *S. pyogenes*, bacteria associated with respiratory infections. Determining the secondary metabolites in extracts methanol of each species, as well as evaluating activity antibacterial extracts syrups, and their antioxidant capacity. It was found that the extract of eucalyptus is best to inhibit bacteria, as well as in the form of syrup, and cinnamon extract is the best antioxidant.
KEYWORDS: Antibacterial activity, antioxidant activity, plant extracts, secondary metabolites.

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos antiguos se han usado diferentes métodos de conservación de la salud a través de la herbolaria. Actualmente Francia es el país que más ha repuntando en

la obtención de nuevas estrategias de generación de conocimiento sobre los productos naturales, por cada proceso de elucidación de metabolitos para identificar los principios activos.

Sin embargo, desde tiempo inmemorial las culturas indígenas mexicanas han acostumbrado colectar los azares cada año el primer viernes de marzo en la translación del invierno a la primavera, preámbulo de la floración del 21 de marzo cuando entra con frenesí la primavera. Es costumbre recabar flores, botones florales y cortezas que se vierten en alcohol para masajes o aguardiente para masajes y para tomar, lo que indica que es un solvente sustentable y potable apropiado para el consumo humano.

En las culturas popolucas, náhuatl, mixtecas y totonacas esta mezcla se denomina yolispa, curado. cúralo todo, digestivo, relajante, y se acostumbra guardar en un lugar oscuro y en fosas de tierra, con la finalidad de conservarlo hasta ocuparlo. En la construcción del pensamiento científico son poliextractos, que tienen innumerables funciones debido a que traspasan los objetivos de muchos antibióticos desde la actividad antimicrobiana y antioxidante.

El desequilibrio que causa estrés oxidativo y el balance del equilibrio de la flora mediante la conjunción de sus metabolitos extraídos en un solvente medianamente polar, esta ventaja comparativa general la detención del estrés oxidativo, manteniendo estable la salud humana y hasta de cualquier ser vivo, por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo revelar el comportamiento de los extractos de forma individual y combinada en la actividad antimicrobiana y antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección de material vegetal

El material vegetal consta de cinco especies de plantas, de las cuales se obtuvieron flores de bugambilia roja y morada, frutos de eucalipto, corteza de canela y hojas de ítamo obtenidos de diferentes lugares. Las muestras fueron colectadas en la comunidad de Acahuizotla Municipio de Chilpancingo Guerrero. Se estudiaron dos variedades de caléndula (S2 y S3).

Lavado y secado

Para la canela y eucalipto las plantas se separaron por partes, se lavaron con agua y se secaron a temperatura ambiente. Para la bugambilia y el ítamo se colocaron en bolsas de papel perforadas en una estufa de convección a una temperatura de 60 ^{o}C, volteándolas diario durante tres días.

Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos se pesaron 60 gramos de cada muestra,

adicionando 500 ml de etanol al 95 %, mediante el método de soxhlet a diferentes ciclos de lavado. Una vez obtenidos los extractos, fueron concentrados en un rotavapor hasta obtener un volumen mínimo, para luego dejar secarlos a temperatura ambiente con el fin de evaporar el resto del solvente y así obtener un extracto crudo.

Determinación de la actividad antibacteriana de los extractos

Se utilizaron cepas de bacterias de *S.pyogenes* y *S.aureus.* Se seleccionaron los medios de cultivo agar Mueller-Hinton (anexo 6) para *S. aureus* y agar sangre para *S.pyogenes.*

Primero se preparó el inóculo de las cepas bacterianas a utilizar, ajustándolos con un nefelómetro de 0.5 de la escala de MacFarland, correspondiente a una concentración de 1.5 x 10^8 células /mL.

La evaluación de la actividad antibacteriana se realizó con el método de Kirby-Bauer, se tomaron 0.5 g de cada uno de los extractos crudos y se aforo en 3 mL de etanol, quedando todos los extractos a una concentración de 0.166 mg mL^{-1}. Después se tomaron discos de papel estériles a los que se les adicionó 20 μL, agregando en total de 3.33 μg μL^{-1} de extracto crudo en cada disco, se dejaron secar en una caja de petri, posteriormente se colocaron en los medios de cultivos. El control positivo fue un disco de penicilina de 10 μg y el negativo fue un disco con 20 μL de etanol. Cada una de las pruebas se realizó por triplicado.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los extractos de las plantas en el estudio, se realizó por el método del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo). Se tomaron 10 µL de cada extracto, 2 mL de DPPH realizando tres repeticiones. Todas las reacciones fueron incubadas durante 2 horas a temperatura ambiente, en tubos de ensayo protegidas de la luz, después, se midieron las absorbancias a 520 nm en un espectrofotómetro.

El porcentaje de inhibición del DPPH se calculó mediante la expresión:

$$inhibición = \%\, I\ \frac{A - A_1}{A}.100$$

En donde A = Absorbancia del blanco, A1= Absorbancia de la muestra.

Los resultados se expresaron como concentración inhibitoria IC50 (en mg mL^{-1}), esto es, la cantidad de sustancia en 1 ml de reacción, necesaria para disminuir al 50% la concentración inicial de DPPH.

Formulaciones y preparación de los jarabes

Para la elaboración de un jarabe es importante seleccionar con sumo cuidado la sacarosa y usar agua purificada desprovista de sustancias extrañas, utilizar vasos y recipientes limpios. Esta operación debe ser conducida con cuidado para evitar la contaminación y garantizar la estabilidad del producto como se muestra en el cuadro 1.

Materia prima	Función
Extractos de bugambilia, canela, caléndula, eucalipto e ítamo	Principio activo
Microencapsulado de jamaica	Colorante y regulador de Ph
Agua	Vehículo
Sabor uva	Saborizante
Miel	Edulcorante
Peptina	Espesante
Alcohol	Cosolvente

Cuadro 1. Ingredientes de las formulaciones de los jarabes.

El procedimiento se realizó de acuerdo a lo establecido en el Código PN/L/FF/004/00. Se realizaron formulaciones utilizando los diferentes extractos, por separado y en conjunto para ver la efectividad de cada uno, el procedimiento fue el siguiente: se pesaron todos los componentes de la fórmula; se añadió en el agua miel de abeja y se agitó suavemente hasta obtener una mezcla homogénea, después se adicionó un colorante (microencapsulado de jamaica): enseguida se incorporó el saborizante; por último se añadió el principio activo y se agitó suavemente la mezcla. Las cantidades utilizadas no serán proporcionas por qué se quiere patentar la fórmula.

Determinación de grados brix y pH

Se calibro el equipo con Buffer pH 4.0 y Buffer pH 7.01, se colocó el equipo en la opción medición. Se tomaron 20 mL de jarabe, se colocó en beaker de 100 mL, sumergir el electrodo en la muestra y hacer la lectura de pH, para esta prueba no existe especificación, para medir los grados brix de las formulaciones se utilizó el refractómetro modelo WYA (2WAJ) en el cual se colocó una gota de las muestras y se observaron los grados brix.

Posteriormente cuando las formulaciones tenían la cantidad de azúcar necesaria se midió el pH de la solución con un potenciómetro de la marca corning.

Evaluación de la actividad antibacteriana del jarabe

Para evaluar el efecto inhibidor de las formulaciones obtenidas sobre el crecimiento de las cepas bacterianas, se utilizó la misma metodología realizada para los extractos crudos de las cinco plantas colocando 10 μL en cada disco.

RESULTADOS

El cuadro 2. Muestra que todos los jarabes tienen grados brix de 59.2 y valores de pH que varían de 5.1 a 5.5, pero cumplen con lo establecido por la NMX-F-169-1984.

Formulaciones	pH	Grados brix
Bugambilia	5.4	59.2
Canela	5.3	59.2
Caléndula	5.1	59.2
Itamo	5.2	59.2
Eucalipto	5.5	59.2
Mezcla	5.4	59.2

Cuadro 2. Determinación pH de las formulaciones realizadas.

Análisis estadístico de los antibiogramas realizados para determinar la actividad antibacteriana de las muestras procesadas.

El análisis estadístico de las variables se realizó con el Software R versión 3.3. Para las tres variables respuesta de interés en el estudio se presentan medias, varianzas y gráficas para 34 tratamientos. Estos se obtienen al considerar los siete extractos, tres fórmulas-cepas y dos bacterias, los cuales se describen en el Cuadro 5.

Para determinar si son iguales las medias de los halos de inhibición de los 34 tratamientos se usó un diseño completamente al azar, cuyo modelo estadístico es:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde Y_{ij} es el halo de inhibición, μ es la media general y τ_i es el efecto del tratamiento *i*. El modelo supone que los errores ε_{ij} tienen distribución normal, son independientes y tienen varianzas homogéneas.

Las medias de los tratamientos se muestran en el Cuadro 5. Se observa que las fórmulas basadas en caléndula tienen medias de halos de inhibición muy pequeñas, por el contrario algunas fórmulas basadas en penicilina tienen los mejores resultados. Esto se aprecia mejor en la figura 1.

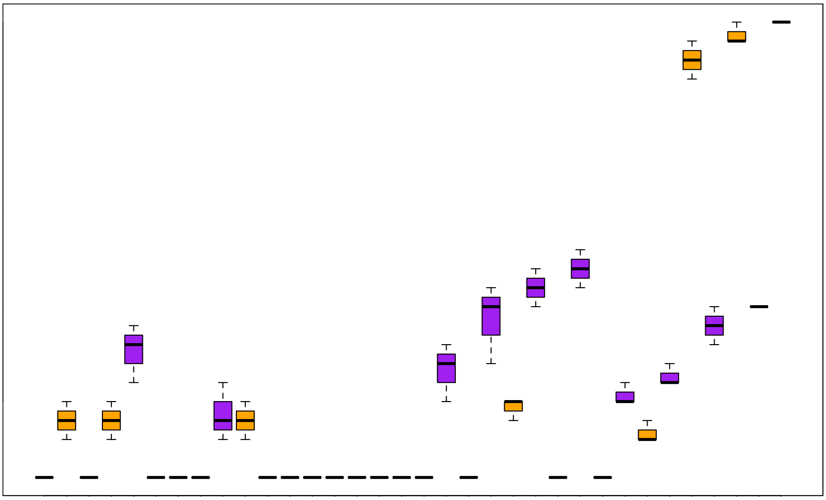


Figura 1. Distribución de los halos de inhibición de los tratamientos estadísticos estudiados.

El análisis de las medias de los halos de inhibición en los tratamientos mediante un diseño completamente al azar mostró que no se cumplen los supuestos del modelo. Se rechazó que los residuos tienen distribución normal porque las pruebas estadísticas de normalidad tienen valor $p<0.05$ (Shapiro-Wilk p=1.474e-09; Anderson–Darling p=2.2e-16; Lilliefors Kolmogorov-Smimov p= 2.2e-16).

Tratamientos	MRHI	MHI
Penicilina, Jarabe, *S.pyogenes* (PE32P)	100.5	30.00[a]
Penicilina, Jarabes individuales, cepa dos *S.pyogenes* (PE22P)	98.2	29.33[a]
Penicilina, Extractos individuales, cepa uno *S.pyogenes* (PE11P)	95.3	28.00[ab]
IT22A	91.2	17.00[bc]
IT11A	88.3	16.00[cd]
PE32A	84.5	15.00[de]
EU22A	82.8	14.33[de]
PE22A	81.0	14.00[ef]
CA11A	76.5	12.67[fg]
EU11A	72.5	11.67[g]
PE11A	72.3	11.33[gh]
JA32A	66.7	10.33[hi]
EU22P	62.2	9.67[ij]
CL11A	60.0	9.33[j]
BU11P	57.8	9.00[jk]
BU22P	57.8	9.00[jk]
CL11P	57.8	9.00[jk]

JA32P	53.5	8.33k
BU11A	24.5	6.00l
BU22A	24.5	6.00l
CA11P	24.5	6.00l
CA22A	24.5	6.00l
CA22P	24.5	6.00l
CL22A	24.5	6.00l
CL22P	24.5	6.00l
CN11A	24.5	6.00l
CN11P	24.5	6.00l
CN22A	24.5	6.00l
CN22P	24.5	6.00l
CN32A	24.5	6.00l
CN32P	24.5	6.00l
EU11P	24.5	6.00l
IT11P	24.5	6.00l
IT22P	24.5	6.00l

Cuadro 5. Tratamientos, medias de los halos de inhibición (MHI) mm, de sus rangos (MRHI)

Tratamientos con la misma letra tienen medias poblacionales estadísticamente iguales

En las gráficas siguientes se describen los resultados obtenidos del análisis estadístico de los antibiogramas realizados de las muestras utilizadas, con los controles positivo en este caso se utilizó un disco con 10 μg de penicilina y el control negativo fue un disco de papel con 20 μL de alcohol con diámetro de 6mm. En la gráfica 2. Se observa que para *S. pyogenes,* los tratamientos

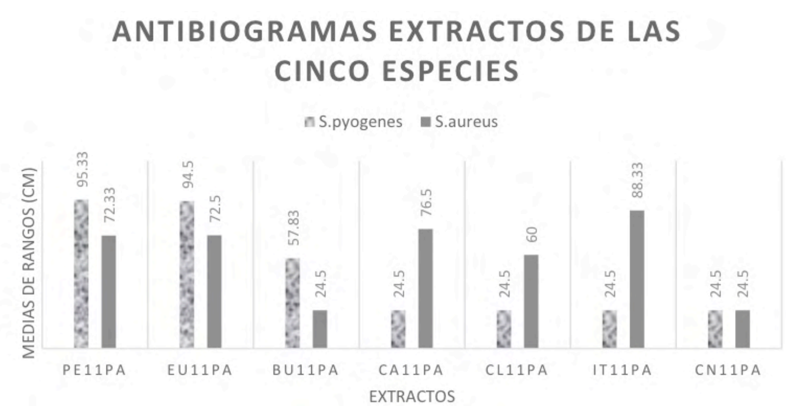


Figura 2. Medias de rango de halos de inhibición con extractos (PE11PA: control positivo, BU11PA: bugambilia, CA11PA: canela, CL11PA: caléndula, EU11PA: eucalipto, IT11PA: ítamo, CN11PA: control negativo, todos se retaron contra S. *pyogenes y aureus,* utilizando 3.32 mg de cada extracto en la una primera cepa).

Para la cepa de *S. aureus,* el tratamiento BU11A presentó un rango de 24.5 al igual que el control negativo CN11A, mientras que el tratamiento Cl11A obtuvo el menor rango de inhibición de 60, es decir, que el poder inhibidor de este tratamiento es mínimo. Se observa también que frente a este microorganismo los tratamientos que presentaron un mayor rango fueron: IT11A, seguido de CA11A y EU11A los cuales tuvieron valores de 88.33, 76.5 y 72.5 por arriba del PE11A presentando un rango de 72.33 que se usó como control positivo, como se muestra en la figura 2.

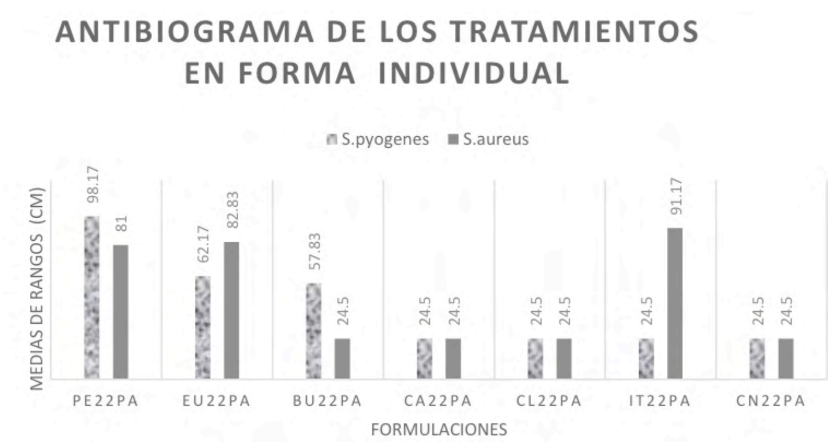


Figura 3. Medidas de rango de halos de inhibición de los jarabes con extractos individuales (PE22PA: control positivo, BU22PA: jarabe de bugambilia, CA22PA: jarabe de canela, CL22PA: jarabe de caléndula, EU22PA: jarabe de eucalipto, IT22PA: jarabe de ítamo todos se retaron contra *S. pyogenes y aureus,* utilizando una segunda cepa).

En la figura 3. Para *S. pyogenes,* se muestra que los tratamientos CA22P, CL22P e IT22P no presentaron halos de inhibición teniendo una media de rango igual que el CN22P (control negativo), mientras que los jarabes de BU22P tiene una media de rango de inhibición de 57.83 y el EU22P presentó una media de rango de 62.17, el PE22P (antibiótico) fue el que obtuvo un mayor halo de inhibición esto debido a que es un tratamiento específico para esta bacteria.

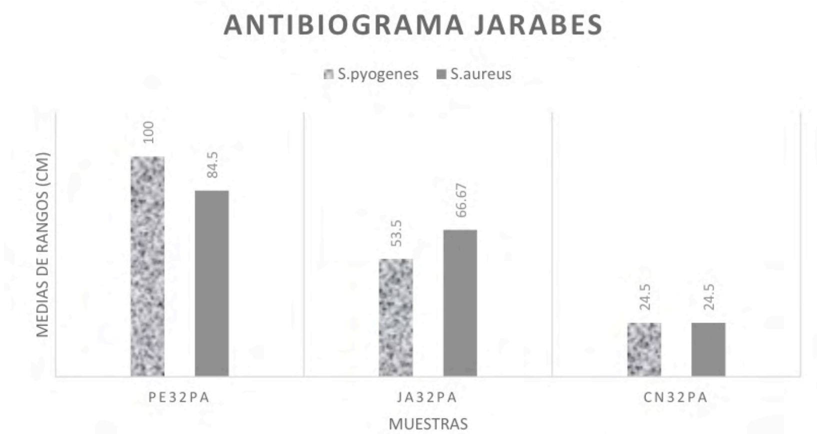


Figura 4. Medidas de rango de halos de inhibición del jarabes (PE32PA: control positivo, JA32PA: jarabe mezcla, CN32PA: control negativo, todos se retaron contra S. *pyogenes y S. aureus,* utilizando la segundas cepas).

En la Figura 4. Se muestra que el tratamiento que tiene mayor rango es PE32P, el cual era de esperarse debido que este es un antibiótico específico para estas bacterias, mientras que el jarabe (JA32A) presentó mayor sensibilidad frente a *S.aureus* con un rango de 66.67, en comparación con *S. pyogenes* con un valor de 53.5.

Determinacion de la actividad antioxidante por el método DPPH.

En el cuadro 6 se muestra que todas las plantas presentaron actividad antioxidante en diferentes grados, siendo la canela la que presento mayor actividad antioxidante, lo cual se vio reflejado en el análisis estadístico del IC50 (Cantidad de extracto necesaria para reducir el 50 % del radical), en el cual el mejor antioxidante es aquel del que se necesita una menor cantidad para reducir solo el 50 % del radical libre (DPPH).

Especie	Potencial antioxidante (%)	CI50 (mg)[§]
Canela	100 ± 0.0	0.25[a]
Eucalipto	29.9 ± 0.3	0.80[c]
Caléndula (S2)	33.1 ± 0.3	0.70[c]
Ítamo	12.1 ± 0.8	2.08[d]
Bugambilia roja	73.7 ± 3.5	0.34[b]

± Desviación estándar. [§] Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes (α= 0.05).

Cuadro 6. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de las plantas.

DISCUSIÓN

En base a los resultados obtenidos de la actividad antibacteriana de los extractos frente a *Staphylococcus aureus* se establece que los extractos de canela, ítamo, caléndula y eucalipto funcionan como inhibidores bacterianos contra estas cepas utilizando 20µL en la gráfica 1. Estudios realizados por Márquez *et al., (*2005) demuestran que el ítamo puede inhibir a *Sthaphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, y *Pseudomona aeruginisa* con 10 mg ml^{-1} de extracto etanólico*.* Lu *et al*., (2011) establece que el aceite esencial de canela es fuerte agente antibacterianos frente a *S.aureus, B. cereus, B.subtilis, E.coli y s. typhimurium*. Martin *et al.,* (2010) en la investigación de composición química y propiedades antimicrobianas del aceite esencial de tres especies de eucalipto demuestran la actividad antibacteriana frente a *S.aureus.* Lastra y Piquet., (1999) mostraron la actividad antibacteriana de caléndula especialmente contra *S. aureus, S. fecalis, S. Schipochliev y S. Fleischner.* El extracto de bugambilia fue el único que no inhibió a la bacteria, tal como se establece en un estudio realizado por Cáceres., (1990), en el que demuestra que los extractos acuoso y etanólico de hojas y flores de bugambilia son inactivos contra *E.coli* y *S. aureus*. Sin embargo es conveniente utilizar concentraciones mayores del extracto para corroborar la inactividad.

Streptococcus pyogenes fue sensible a los extractos de eucalipto y bugambilia, (figura 3) presentando resistencia a los demás extractos, esto puede deberse a que la bacteria presenta una capsula y proteína M, que están asociadas a una mayor virulencia (Alós *et al.,* 2000).

Por lo anterior, se puede decir que la acción antibacteriana de los extractos de canela, caléndula, itamo y bugambilia, están relacionados con los taninos y principalmente con los flavonoides, ya que presentaron una alta concentración de este último. La actividad antibacteriana del eucalipto está dada por los triterpenos, esto se pudo confirmar con la cromatografía de capa fina donde muestra una alta concentración del metabolito.

Avila *et al*., (2006) relacionaron la acción antibacteriana frente a *S.aureus* a la presencia de terpenos y flavonoides en la especie *Diplostephium tominse*. Tabares *et al.,* (2007) describió que la identificación de triterpenos en una placa revelan la conexión entre su composición química, ya que estos atraviesan la barrera superficial de las bacterias y después se fijan sobres su membrana celular. La actividad de los flavonoides frente a los microorganismos probablemente se debe a que forman complejos con las proteínas solubles, extracelulares y con las células de la pared bacteriana. Se cree que la actividad antimicrobiana de los taninos se debe a su interacción sobre las adhesinas, proteínas de la pared celular, y a su capacidad de unirse a polisacáridos (Cowan., 1999).

En base a las formulaciones realizadas se observa que la fórmula más adecuada seria utilizando solo un extracto vegetal porque se obtiene mejores resultados, ya que en la mezcla de los extractos se puede presentar una sinergia negativa. Además el mejor extracto es el de eucalipto porque es el único que inhibió las dos bacterias utilizadas.

Por otra parte, al manejar un extracto crudo y no fracciones puras, es posible que exista una acción antagónica de otros metabolitos presentes en el extracto que actúen sobre los compuestos responsables de la actividad biológica inhibiendo su efecto (Ávila *et al.,* 2006).

Cabe mencionar que las formulaciones realizadas presentan un pH variado que va de 5.1 a 5.5 y grados brix de 58.9, valores que están dentro de lo establecido por la NMX-F-169-1984. El pH es uno de los factores de calidad a controlar en los jarabes, tanto como indicadores de las condiciones higiénicas; un valor bajo de este favorece la inactivación de microorganismos, (FAO 2004).

En la evaluación de la actividad antioxidante realizado por el método del DPPH, observamos que el extracto de canela mostró la mayor capacidad antioxidante en un 100 % a una concentración de 0.1g mL^{-1} de extracto metanólico, así mismo Ramos *et al.,* 2008 demostraron la capacidad antioxidante del extracto de canela obteniendo 90.11% del potencial antioxidante a una concentración 1ug mL^{-1}. Los extractos de bugambilia, caléndula, eucalipto e ítamo que presentaron un menor potencial antioxidante en comparación con la canela lo cual se ve reflejado en el cuadro 5.

El organismo está expuesto a una gran variedad de ROS (especies reactivas del oxígeno) y RNS (especies reactivas del nitrógeno) que se pueden generarse a partir de fuentes endógenas, relacionadas con el metabolismo del oxígeno y con las diversas reacciones de defensa de nuestro sistema inmunitario (Dreosti, 2000). En las infecciones respiratorias, hay un gran incremento de células fagocìticas (leucocitos neutrófilos, macrófagos y eosinófilos), las cuales al activarse por medio de mediadores proinflamatorios o de productos bacterianos, víricos o de parásitos, destruyen las células infectadas por medio de un ataque oxidativo en el que se producen grandes cantidades de $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2, $^{\cdot}OH$, $NO^{\cdot}$ y OCl^{-} (Forman y Torres 2001). Es importante evaluar la actividad antioxidante de los extractos para ayudar a retardar o inhibir el estrés oxidativo en el tratamiento de muchas enfermedades y en las infecciones.

CONCLUSIONES

La canela demostró una mayor capacidad antioxidante en comparación con los demás extractos utilizados; la mezcla utilizada con los cinco extractos funciono mejor como inhibidor contra la cepa *S.aureus*; el eucalipto presentó el mejor efecto antibacteriano como extracto solo, así como también en forma de jarabe contra *S.aureus* y *S.pyogenes.*

REFERENCIAS

Abarca-Vargas, R. and Petricevich, V. L. 2018. Bougainvillea genus: a review on Phytochemistry, pharmacology, and toxicology. Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM, 9070927. doi:10.1155/2018/9070927.

Alós, J. I.; Aracil, B.; Oteo, J.; Torres, C. y Gómez, J. L. 2003. Significant increase in the prevalence of erythromycin-resistant, clindamycin- and miocamycin-susceptible (M phenotype) Streptococcus pyogenes in Spain. J. Antimicrobial Chem. 2003 (51):333-337. DOI: 10.1093/jac/dkg100

Argueta, V.; Cano, A. y Rodarte M. 2000. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. Tomo III, Instituto Nacional Indigenista (Ed). México. 1786.

Ávila, L.; Baquero, E.; Viña, A. y Murillo, E. 2006. Actividad antibacteriana de Diplostephium tolimense Cuatrec. (Asteraceae) frente a Staphylococcus aureus. Vitae, Rev. Fac. Quím. Farm. 13(1):55-60.

Bravo, M. y López-Ortega, A. 1998. Radicales libres e inflamación (Free radicals and inflamation). Gaceta de Ciencias Vet. 4(2):31-40.

Cáceres, A. C.; Moreles, L. M. y Navarro, G. 1990. Demostración de la actividad antimicrobiana de algunas especies vegetales usadas popularmente como medicinales en la Cuenca del Caribe. Ciencia y Tec. 2001 (1):81-87.

Castañeda, C. B.; Ramos, L. L. E. e Ibáñez, V. L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas Horizonte Médico. Universidad de San Martín de Porres La Molina, Perú. 8(1):56-72.

Cowan, M. M. 1999. Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microbiol. 12(4):564-582.

Dreosti, I. E. 2000. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. Nutrition. 16(7-8):692-694. doi: 10.1016 / s0899-9007 (00) 00304-x.

FAO. 2004. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, IT. Emergencia café y reducción de la acratoxina A en el café.

García, C. H.; Quert, A. R.; Becquer, R. C. y Castañera, M. 2004. Fitoquímica del eucalipto sp. Rev For. Baracoa 1. 37-46.

Harborne, J. B. 1997. Biochemical plant ecology. Plant biochemistry. Ed. Elsevier. 503-516 pp.

Lastra, V. H. and Piquet, G. R. 1999. Calendula officinalis. Rev. Cubana Farmacol. 33(3):188-94.

LU, F.; Ding, Y. C.; Ye, X. Q. and Ding, Y. T. 2011. Antibacterial Effect of cinnamon oil combined with thyme or clove oil. Agric. Sci. China. 10(9):1482-1487.

Márquez, V. R.; Mercado, P. A.; Vargas, M. C. and de La Rosa, T. C. 2005. Antibacterial activity of Pedilanthus tithymaloides (L.) poit (Ultimorrial) Actual Biol. 27(1):21-25

Martin, G.; Jian, Z.; Min, A. and Samson, A. 2010. Chemical composition and antimicrobial properties of essential iols of three Australian Eucalytus species. Food Chem. 119(2):731-737.

NMX-F-169-1984. Alimentos para humanos. Jarabes. Foods for humans. Syrups. Normas mexicanas. Dirección general de normas.

Osorio, E.; Montoya, G. y Bastida, G. 2009. Caracterización fitoquímica de una fracción de bioflavonoides de Garcinia madruno: su inhibición de la oxidación de LDL humana y su mecanismo de estabilización de especies radicalarias. Vitae. 16(3):369-377.

Tabares, P. L.; Ávila, F.; Torres, D.; Cardona, W.; Quiñones Forero, J. 2007. Metabolitos secundarios antivirales de algunas especies de la familia Euphorbiaceae. Scienti et Techica. 1(33):107-110.

CAPÍTULO 4

CAMBIOS EN LA FERTILIDAD DEL SUELO POR EFECTO DE MONOCULTIVOS EN UN SUELO REGOSOL

Data de aceite: 19/07/2022

Alejandro Otlica Rosario
Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán

Antonio Elvira Espinosa
Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán

José Felipe Fausto Juárez Cadena
Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán

Adriana Moreno Crispín
Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán

Juan Contreras Ramos
Colegio de Posgraduados

RESUMEN: El predominio del cultivo del maíz en la región de Serdán, está considerado por estudios previos como poco o nada sostenible, a causa de que han desaparecido gradualmente las asociaciones de leguminosas, y en las localidades donde aún se practican las rotaciones entre gramíneas y leguminosas estas se han espaciado de tal manera que en un periodo de cinco años el cultivo de maíz predomina en el 60 u 80% de dicho ciclo por lo que el actual predominio de maíz no cumple con los criterios de manejo sustentable de los terrenos agrícolas (Mancera 2000; Contreras 2006). Si bien la tecnología local de producción aún es practicada por los productores esta por los altos costos de producción y la escasa rentabilidad de los cultivos ha obligado a los agricultores a reducir los costos vía un mayor uso de maquinaria y reducción o exclusión de cultivos no rentables social y económicamente, reduciendo la aplicación de insumos agrícolas entre ellos el fertilizante por sus altos costos tendencia que resulta más clara cuando se trata de cultivos de leguminosas. Con respecto al maíz (se observa con frecuencia que las aplicaciones de fertilizante cubren solo el 70% de la dosis de nitrógeno y los 50% del fósforo recomendados por la investigación (110N-50P_2O_5), lo que se refleja en rendimientos notablemente inferiores al potencial del cultivo. Dada la merma en la rentabilidad socioeconómica de la actividad agrícola local y de sus efectos negativos en los aspectos tecnológicos y de la fertilidad de suelo por las actuales prácticas agrícolas de la zona el objetivo general del presente proyecto es: Desarrollar prácticas de manejo sustentable que mejoren los rendimientos de los cultivos y los niveles de fertilidad del suelo.

PALABRAS CLAVE: Fertilidad, rotación, rendimiento, suelo, cultivos.

INTRODUCCIÓN

En el estado de Puebla, la región agrícola de Serdán, en cuanto a superficie y rendimiento del cultivo de maíz es la segunda zona agrícola en importancia después del valle de Cholula. Ubicada en el altiplano mexicano Serdán cuenta con una agricultura en transición, donde el productor local tiene una alta dependencia del cultivo de maíz ya que posee en promedio un

total de seis hectáreas, por ello, busca manejar a través de diferentes fechas de siembra un cultivo que le garantice en promedio la mejor estabilidad de rendimientos e ingresos para la seguridad de su familia, por lo que ha privilegiado la producción del monocultivo de maíz, al que puede destinar hasta el 100% de su tenencia agrícola en caso de que el perciba que las condiciones climáticas del ciclo agrícola le serán favorables.

El desarrollo de la tecnología agrícola dentro de la región de Serdán (Puebla) por parte del Colegio de Postgraduados de 1975 al 2003 se realizó en los terrenos de los productores donde en un principio existían más de doce sistemas agrícolas con sus respectivas variedades locales, razón por la cual en cada ciclo anual se trabajó en desarrollar para los cultivos de maíz, haba, fríjol, trigo y avena que comprendían el 90% de la superficie agrícola, con lo cual se lograba el interés y participación de los productores, y se evitaba el efecto llamado "parcela experimental" donde la continua mejora de la fertilidad del suelo y el control radical de plagas y enfermedades dentro de una misma parcela y sitio derivaba en resultados fuera de la realidad de los resultados en las investigaciones sobre la respuesta a los insumos químicos en las parcelas de los productores. Sin embargo, en un periodo de treinta años la región ha perdido la mayor parte de su diversidad de cultivos y variedades locales y los rendimientos permanecen estables, pero no así la rentabilidad de los cultivos (Avelino, 1985; Juárez y Ramírez 2001, Contreras 2014).

La actual tecnología local de producción practicada por los productores tiene su herencia de la investigación experimental en los terrenos locales y la difusión de los resultados de la misma a través de las instituciones vinculadas al sector rural, pero la misma presenta actualmente altos costos de producción y una escasa rentabilidad de los cultivos, lo que ha obligado a los agricultores a reducir los costos vía un mayor uso de maquinaria y reducción o exclusión de cultivos no rentables social y económicamente, disminuyendo la aplicación de insumos agrícolas entre ellos el fertilizante por sus altos costos tendencia que resulta más clara cuando se trata de cultivos de leguminosas donde la aplicación de fertilizantes con sus excepciones es prácticamente nula . Con respecto al maíz (su recomendación 110N-50P2O5) se observa con frecuencia que las aplicaciones de fertilizante cubren solo el 70% de la dosis de nitrógeno y el 50% del fósforo, lo que se refleja en rendimientos 20 a 30% inferiores al potencial del cultivo de 4.5 toneladas por hectárea.

El predominio del cultivo de maíz en la región agrícola de Serdán, está considerado por estudios previos como poco o nada sostenible, a causa de que han desaparecido gradualmente las asociaciones de leguminosas, y en las localidades donde aún se practican las rotaciones entre gramíneas y leguminosas estas se han espaciado de tal manera que en un periodo de cinco años el cultivo de maíz predomina en el 60 u 80% de dicho ciclo por lo que el actual predominio de maíz no cumple con los criterios de manejo sustentable de los terrenos agrícolas (Mancera et al 2000; Hernández 2004; Contreras 2006).

Por ello se requiere rescatar y desarrollar una tecnología acorde a las condiciones ambientales y sociales de la región en estudio, donde se den rotaciones y manejo de

cultivos que permitan mantener niveles apropiados de rentabilidad social y económica que eviten la degradación ecológica macro y micro de los suelos, tomando como base los actuales cultivos predominantes dentro de la zona de Serdán incorporando además aquellos sistemas agrícolas con potencial o que son actualmente marginales dentro de la región mediante prácticas sustentables de rotación de cultivos: Prácticas que pueden tener notables ventajas sobre el actual predominio del monocultivo de maíz en la zona, como reducir las pérdidas de los ingresos del productor al establecer una adecuada estrategia de rotaciones con cultivos solos o asociados que permitan incrementar los ingresos o reducir sus pérdidas ante la incertidumbre del clima (Nel y Loubser 2004, Contreras 2014). Además de lo anterior, la incorporación de rotaciones y alternativas de cultivos que se adapte a las necesidades de los productores y de sus sistemas locales, por lo general proporcionan beneficios ambientales como menor uso de pesticidas, hay además un mejor control de enfermedades, plagas y malezas, la extracción o disponibilidad de nutrientes es diferente entre los cultivos que participan en la rotación lo que permite lograr una estabilidad en la aplicación de fertilizantes, mejora la calidad biológica, física y química del suelo, se disminuye la contaminación del agua y el riesgo en la salud del productor, y presenta por consiguiente también la posibilidad de reducir costos, la incorporación de dos o más cultivos creciendo asociados en una misma superficie al mismo tiempo mejora el aprovechamiento de la radiación solar y se tiene una mejor cobertura contra las erosiones eólicas e hídricas (Nel y Loubser 2004, Mohler et al 2009).

Existen algunas desventajas de las rotaciones respecto al monocultivo: Se requiere un control de las rotaciones mediante un plan de manejo de los terrenos, el cual está sujeto a continuas modificaciones por las circunstancias económicas y del clima. Las decisiones particulares de cada productor dificultan el control de las rotaciones sobre todo en áreas donde la superficie de tenencia es pequeña (menor a 20 ha), para el caso del Municipio de Chalchicomula de Sesma la superficie individual de la tenencia agrícola varía de 4 a 20 ha y esta se encuentra fraccionada en tres o más predios, lo que dificulta la mecanización y un control adecuado de la actividad agrícola. Se debe de considerar que un nuevo sistema de producción agrícola introducido a pesar de adaptarse y tener potencial económico, requiere de los apoyos necesarios en tiempo y forma de maquinaria, tecnología, técnicos, insumos, mercado y consumidores lo que puede ser una gran desventaja estructural y política a corto plazo. La convivencia de dos o más cultivos en asociación o imbricación dificulta las labores mecánicas y de manejo en áreas donde la superficie que ostenta el productor no es una limitante, por el contrario, en lugares donde existen minifundios y mano de obra disponible la asociación de dos o más especies en un mismo predio es práctica que se debe de recomendar (Dogan et al 2008; Moncada et al 2010; Contreras 2014).

Las opciones para desarrollar una apropiada secuencia de rotaciones de cultivo que permitan conservar la calidad del suelo y aumente la productividad del mismo, y con ello, la rentabilidad socioeconómica del productor, se ha visto reducida de 1943 a la fecha

en un 80%. Esto por un efecto multifactorial que en conjunto ocasionaron que dejaran de cultivarse localmente 25 cultivos afectando la agro-diversidad local, entre los factores que se pueden mencionar destacan: las propias políticas institucionales que privilegiaban la producción de maíz y fríjol a través de programas de estímulos como la extensión agrícola y subsidios a la producción, hay una baja rentabilidad de aquellos cultivos en el mercado local que no están contemplados dentro de los programas de apoyo, existe una concentración de mercado y especulación comercial, ha disminuido la fuerza laboral en el sector primario, se ha detectado un cambio climático local que ocasionó el aumento de las temperaturas y reducción de la precipitación (Contreras y Díaz 2021). Por lo anterior comentado, solo se conservan los sistemas de producción más rentables o complementarios a las necesidades familiares y de la finca rural, como son el maíz, fríjol, haba y avena, y en ocasiones el chícharo que se siembra para autoconsumo en áreas pequeñas familiares y cuando es con propósitos comerciales en fechas posteriores a mayo ya tardías para granos básicos. En las décadas de los 70´s al 90´s del siglo pasado, se intentó por parte de las instituciones introducir cultivos como girasol, veza, colza y triticale con el propósito de aumentar las opciones productivas del productor, pero estos intentos fallaron por diferentes razones alguna de las cuales fueron lo caro de las semillas, falta de maquinaria apropiada, desinterés comercial y la falta de promoción por los técnicos.

La actual superficie agrícola local promedia del 60 al 82% de la superficie agrícola cultivada, observando un alto predominio del maíz en condiciones de monocultivo ya que ante la falta de mano de obra rara vez realiza la siembra del maíz asociado con alguna leguminosa. La producción del monocultivo de maíz por lo general solo varía en aspectos como: las fechas de siembra, el ciclo de las semillas criollas que emplea, y la cantidad y frecuencia del empleo de insumos químicos y orgánicos.

Normalmente la definición de los sistemas de producción agrícolas basados en monocultivos, se hacen con énfasis en la gran agricultura empresarial que se basa en la explotación de la tierra y la compactación de la tenencia de la misma, hace un uso intensivo de tres recursos vitales suelo-agua-cultivo mediante el empleo a gran escala de maquinaria e insumos para buscar la máxima rentabilidad en corto plazo de los recursos explotados así como en los equipos e insumos empleados en la producción, donde además, los mercados de venta y transporte de insumos y cosechas funciona en perfecta armonía (Badii et al 2018, Torres et al 2018, Saradon 2020). La agricultura comercial moderna, presenta una serie de inconvenientes como son: la pérdida de la biodiversidad natural de la región, la perdida de la diversidad de los cultivos locales al privilegiar los sistemas mono culturales con base de un reducido número de variedades mejoradas lo que erosiona la variedad genética de los cultivos locales, que termina ocasionando una reducida o en definitiva la perdida permanente de la resilencia agrícola local al cambio climático, con lo que aumenta la incertidumbre económica ante los cambios del mercado comercial de los productos agrícolas, hay además un aumento de plagas y enfermedades producto de la perdida de

los enemigos naturales de las mismas, el uso excesivo de insumos aumenta la degradación del suelo (Nicholls et al, 2015, Torres et al., 2018, Saradon 2020).

Bajo estas consideraciones, habiendo descrito previamente los aspectos productivos, sociales, ambientales e institucionales que ocurren en la región de Serdán, tenemos a un productor local minifundista en transición, que comparte muchas desventajas de la producción agrícola en monocultivo, y desafortunadamente al parecer ninguna de las ventajas. Dado el predominio del cultivo del maíz en monocultivo o en asociación con leguminosas en la región, se seleccionaron siete prácticas locales comunes con el objetivo general de: Determinar la rentabilidad y viabilidad económica de siete prácticas de monocultivo del maíz.

Dada la merma en la rentabilidad socioeconómica de la actividad agrícola local y de sus efectos negativos en los aspectos tecnológicos y de la fertilidad de suelo por las actuales prácticas agrícolas de la zona el objetivo general del presente proyecto es: Desarrollar prácticas de manejo sustentable que mejoren los rendimientos de los cultivos y los niveles de fertilidad del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se lleva a cabo en el valle de Serdán, en los terrenos experimentales del Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán (ITSCS) localizado en los 18.998 grados latitud norte y - 97.463 grados longitud oeste. La región donde se desarrolla la presente investigación incluyendo los componentes de vinculación y educación, se ubica en la porción centro oriental del Estado de Puebla, comprendiendo los municipios de Chalchicomula de Sesma, Tlachichuca, San Juan Atenco, Aljojuca y San Nicolás Buenos Aíres, los que tienen una superficie física total de 78,000 hectáreas y en los que predomina el monocultivo del maíz ocupando el 50 al 70% de la superficie agrícola sembrada (INEGI, 2015). La principal actividad económica en el área de trabajo es la agropecuaria donde los productores poseen en promedio seis hectáreas (si bien varía de cuatro a 20 ha) fraccionada en cuatro o más predios con el propósito de reducir el riesgo por sequías y heladas las que ocurren recurrentemente todos los años (Contreras, 2006). El tipo de suelo predominante es el Regosol eutrico con bajo contenido de materia orgánica (0.3% en promedio), de textura arenosa (73 a 93% de arena) con siete tonos de color claro. Es un experimento de largo plazo (más de 10 años) por lo que se requiere continuidad y control permanente. Los suelos son arenosos y profundos de tipo Regosol con Influencia de Andosoles. Previamente al estudiar la variabilidad de las lluvias de los ciclos 1943-1974y 1975-2005 se decidió que las fechas de siembra durante el periodo de estudio del experimento deberían ser en el mes de abril.

Los rendimientos medios de las 7 parcelas con sus cuatro repeticiones de los años 2012-2019, dieron un total de 196 toma de datos durante el periodo en que se estudiaron las

prácticas de monocultivo. Los años 2011 y 2015 no se analizaron por haber sido sembrados en el mes de mayo, por lo que se deben estudiar aparte como efecto de las fechas tardías en los rendimientos y rentabilidad del maíz. Los tratamientos que se estudian en permanente práctica de monocultivo son: 1) Maíz 110N-50P2O5 con 5 toneladas de estiércol (ME); 2) Maíz 135-50P2O5 (M135); 3) Maíz 110N-50P2O5 (M110); 4) MC (el maíz no se fertiliza en año impar, en año par se fertiliza de acuerdo al tratamiento 3); 5) Asociación Maíz-Haba 110N-50P2O5 (MH); 6) Asociación Maíz-Fríjol 110N-0P2O5 (MF); 7) 110N-50 P2O5 con 5 toneladas de estiércol aplicados bianualmente en año par (MEE); las variedades empleadas durante este periodo del experimento han sido criollas locales.

Establecer una investigación continua en un solo sitio durante varios ciclos tiene sus ventajas, en especial cuando se trata de tener un control y seguimiento metodológico continuo en la parcela de investigación al estudiar la respuesta del cultivo a los diferentes aspectos físicos y químicos relacionados con el cuidado de los elementos claves de la sustentabilidad agrícola como es el medir la erosión o mejora de los siguientes indicadores: niveles de fertilidad del suelo, materia orgánica, permeabilidad y estructura del suelo, conservación de la humedad de los suelos entre otros. Aspectos en los cuales la rotación de cultivos y el fraccionamiento del terreno al implementarse durante el tiempo de estudio los diferentes tratamientos que resultan de la sucesión de los cultivos, pueden interferir si se llevara a efecto en parcelas comerciales con la toma de decisiones del productor, de allí la importancia de tener una parcela de control experimental bajo estricto control durante el tiempo que dure el proyecto.

Por las últimas razones ya señaladas, el seguimiento y control de los tratamientos de ese tipo de experimentos requiere de la continuidad y control de las rotaciones dentro de una misma parcela, razón por lo cual se eligió las parcelas experimentales del Instituto Tecnológico Superior de Ciudad Serdán.

La región agrícola de Serdán por su altitud está expuesta a las bajas temperaturas que ocasionan daños y pérdidas en el rendimiento del maíz y fríjol por las heladas tempranas que se presentan a mediados del mes de septiembre u octubre cuando aún no ha finalizado el ciclo de dichos cultivos, lo anterior limita el potencial del cultivo y repercute en los rendimientos. El entorno ecológico de la región de los Llanos de Serdán está influenciado por la sierra madre oriental, donde el Citlaltépetl conocido como Pico de Orizaba y la Sierra Negra afectan la distribución de la precipitación, los vientos y las temperaturas de la zona de estudio, por lo que las heladas son recurrentes en la zona (Figura 1).

La precipitación del área varía de 650 a 1200 mm anuales, pero al ser suelos muy arenosos y bajos en materia orgánica los periodos de sequía en los meses de agosto y septiembre que duran de 24 a 42 días continuos, y que coinciden con la floración y llenado de grano del maíz hace que repercutan negativamente en el rendimiento del maíz.

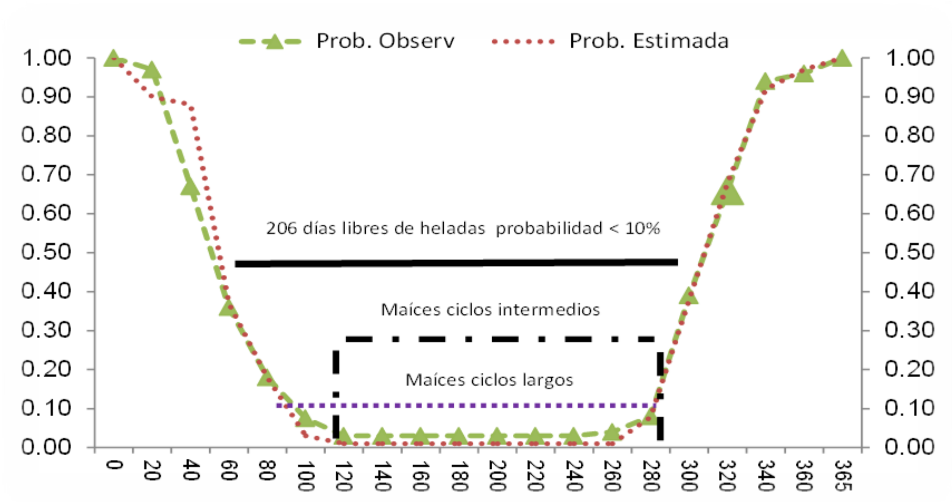


Figura 1. Estimación de probabilidades de heladas con base a datos de temperaturas historicas dentro de la estación climatologica de Cd. Serdán 1963-1981 (Fuente Grassi 1983).

En la actualidad con base en la información histórica de la localidad de Serdán que se separó en dos períodos de observación (1963-1974 y 1975-2002), se estima que de abril a septiembre hay una reducción promedio del 20% de la precipitación anual local, donde los meses de marzo y abril presentan la mayor disminución de la precipitación (> 27%), figura 2. Lo que en términos prácticos representa que las fechas óptimas de las siembras de humedad se recorten de tal manera que se tenga que recomendar a los productores que sus siembras estas sean en abril o mayo, en vez de marzo o abril como aun suele realizar el productor. La gráfica, no obstante, disfraza los problemas de sequías que regularmente se presentan en agosto ya que la información de la propia estación, nos permite determinar que se tiene una posibilidad anual del 44% de que las precipitaciones sean menores en un 20% a la media que se ha obtenido para el mes referido. Si se aumenta el nivel de riesgo para estimar la posibilidad de que la precipitación de agosto para Serdán, sea igual o menor al 50% de la registrada en dicho mes, dicho riesgo se estima que es del 23% equivalente a uno de cada cinco años agrícolas. Información propia generada a partir de las variables climáticas obtenidas de la estación meteorológica de Serdán, los datos provienen de la Comisión Nacional del Agua (CNA) Delegación Puebla).

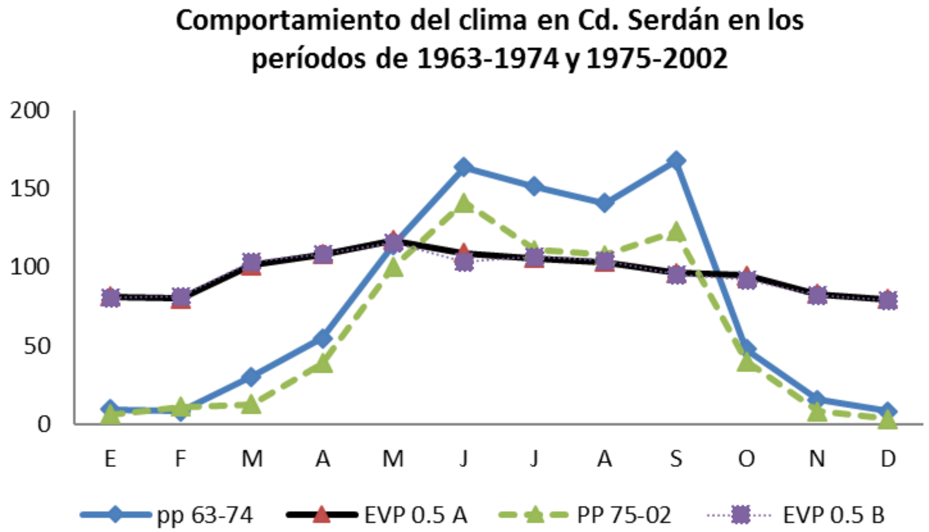


Figura 2. Reducción de la precipitación histórica dentro de la zona agrícola correspondiente a la localidad de Serdán. Elaboración propia con datos de la Comisión Nacional del Agua Delegación Puebla.

En las últimas dos décadas la deforestación ha dejado al descubierto extensas zonas antes boscosas convertidas en terrenos agrícolas que han ocasionado un sensible aumento en la erosión eólica e hídrica afectado sobre todo los terrenos cultivados en las partes bajas del valle, lo que está afectando la sostenibilidad ambiental de la zona. La seguridad alimentaria de la población de los municipios que comprenden los Llanos de Serdán está asegurada pues incluso exporta sus excedentes de granos a otras regiones, pero lo anterior es con base en una continua reducción de su sostenibilidad agrícola ya que se ha determinado que el predominio del monocultivo de maíz con escasas o pocas rotaciones con leguminosas está tiende a reducir los rendimientos y el contenido de materia orgánica del suelo, lo que implica una degradación de los suelos agrícolas y una mayor dependencia de insumos químicos para mantener los rendimientos locales de dichos terrenos (Contreras 2006).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se han escogido 10 tratamientos (maíz con fertilización química 110-50 y cinco toneladas de estiércol, maíz 135-50, maíz 110-50, maíz con fertilización química uno año y cuatro sin químico, Maíz asociado con haba, maíz asociado con fríjol, y sin asociaciones los siguientes cultivos: frijol, haba, avena y chícharo. En la parcela del área de monocultivos se siembran cada cinco surcos los mismos tratamientos sin modificación, las parcelas tienen 40 metros de largo y son de cinco surcos, al final del ciclo se divide cada parcela en cuatro

repeticiones con el objetivo de su análisis estadístico.

En el área denominada rotaciones por el número de posibles combinaciones a partir del cuarto año se eligieron en base a los resultados preliminares las mejores combinaciones reiniciando la rotación a partir de primer y segundo del inicio del experimento. El área de rotaciones sus parcelas son cinco surcos por 15 metros de largo con tres repeticiones en las que en cada ciclo se cambia el cultivo. A medida que se ha fraccionado la parcela experimental en los sucesivos tratamientos y combinaciones de rotaciones se irán ampliando la toma de muestras de suelo para estudiar la evolución de la materia orgánica uno de los principales indicadores de la erosión de la sustentabilidad de los terrenos agrícolas. Adicionalmente para este año se tomarán durante la proyección del experimento, 20 muestras de suelos de los terrenos de los productores (cuatro por agro sistema) para determinar la materia orgánica, textura, profundidad del suelo y otros datos químicos las que serán geo referenciadas por área de cultivo con propósitos de clasificación e identificación agroecológica en estudios posteriores.

Otros indicadores de sustentabilidad como son la capacidad de retención de humedad y permeabilidad del suelo, el lixiviado del nitrógeno, la absorción del nitrógeno por la planta también se ha considerado si bien por el momento se desconoce el presupuesto del equipo y el costo de los análisis respectivos.

Dentro de la parcela experimental si se consiguen estudiantes de licenciatura se tomarán variables del cultivo como son: Unidades térmicas acumuladas por cada fase de cultivo y el total de las mismas, la superficie de radiación interceptada por el método de la regla, superficie inicial de área foliar de crecimiento, índice de área foliar máxima, fracción máxima del índice de área foliar a la madurez fisiológica, profundidad máxima de la raíz.

Los análisis estadísticos de las condiciones químicas y físicas de suelo se harán mediante el análisis SAS como Bloques al Azar en forma individual (Monocultivo y Rotaciones, y en parcelas divididas (Monocultivo vs Rotaciones). Los rendimientos al ser diferentes cultivos solo pueden ser comparados los tratamientos de Maíz y Maíz-Asociación. Por ello, también se realizará un análisis económico y energético de los tratamientos que mejores resultados obtengan en forma independiente o dentro de un plan de rotaciones.

Los sistemas de asociación con maíz, por muy productivos y rentables que aquí se presentan, tienen las siguientes desventajas: son más propios para traspatios o áreas minifundistas con exceso de mano de obra; no hay maquinaría apropiada para la cosecha de dos cultivos disimiles en la forma de ser cosechadas, al menos en México, por lo que requieren de jornales extras con respecto las mismas especies cultivadas por separado; hay poca investigación al respecto y por consiguiente poca difusión; van en contracorriente de las tendencias políticas y económicas con respecto a la explotación comercial del suelo-cultivo-agua; se dificulta la forma de evaluar estadísticamente este tipo de experimentos (Ebel et al, 2017).

CONCLUSIONES

Todas las variables del suelo básicas que comprenden la fertilidad del suelo que se estudiaron, fueron afectadas por la acción de la labranza, manejo y cultivo en monocultivo; la materia orgánica, nitrógeno total, fosforo soluble y calcio soluble tienden a aumentar con el uso agrícola con respecto al suelo en reposo. En contraste, el potasio y magnesio soluble se reducen con la actividad agrícola del suelo.

El haba en monocultivo o en asociación con el maíz tendió a mejorar la mayoría de las variables del suelo estudiadas en las dos capas de suelo (20 y 40 cm).

Existen contrastes para el fósforo para dos tratamientos o cultivos, donde la avena obtuvo el mayor aumento de este nutriente en el suelo lo que indica enriquecimiento de dicho nutriente en el suelo. Y donde el exceso de nitrógeno en maíz (M135) para aumentar el rendimiento y volumen de pastura ocasiona el deterioro del fósforo en el suelo por lo que este tratamiento de maíz de alto rendimiento, no debe ser recomendado para la producción en monocultivo sin rotaciones de otras especies agrícolas, o en su caso incrementar la dosis de fósforo en las parcelas de alto rendimiento de maíz para la zona de Serdán.

Se debe realizar cambios en la tecnología de maíz de alto rendimientos (M135) y de chícharo puesto que causan déficits de fósforo y potasio en estos dos cultivos que pueden repercutir en el futuro en los rendimientos de los cultivos y en la calidad del suelo agrícola.

A pesar de la variabilidad climática, con el maíz tienen en promedio una adecuada estabilidad de rendimientos e ingresos.

El estudio permitió definir cuatro modalidades de producción del maíz en monocultivo en condiciones de secano, que deben ser aún mejoradas con el propósito de incrementar su rentabilidad agregando otras opciones de manejo del cultivo.

Se debe considerar incorporar una secuencia de cultivos que permitan romper la tendencia local hacia el monocultivo, privilegiando el aumento en la rentabilidad e ingresos del productor con el propósito de mejorar el bienestar en general de su familia y la conservación de su suelo.

REFERENCIAS

Badii, M.H., A. Guillen, J.L. Abreu, Y. Toribio and E. Fernández. 2018. Indicadores de desarrollo sustentable y su aplicación. (Indicators of sustaianable developments and thier application) Daena: International Journal of Good Conscience. 13(1)178-236. Abril 2018. ISSN 1870-557X

Saradon J. S. 2020. Agrodiversidad, su rol en una agricultura sustentable. Capítulo 1. Pág 13-36. In. Biodiversidad, agroecología y agricultura sustentable. Coordinador General Saradon J. S. Primera Edición, La Plata. Universidad de la Plata; EDULP 2020. Libro Digital (Libros de cátedra). 950-34-1948-9 Primera edición, 2020. ISBN. © 2020-Edulp. http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/109141/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y (revisado el 10 de julio de 2021).

Avelino R. D. 1985. Resultados de las Estimaciones de Rendimiento de Maíz en el Período 1975 a 1984. Plan Llanos de Serdán, CEICADAR, Colegio de Postgraduados, Puebla, México.

Contreras R. J. 2006. Evaluación de la Sostenibilidad del Cultivo de Maíz Grano en la Región de Serdán, Puebla (México). Tesis de Doctorado. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Madrid, España.

Contreras 2014. El monocultivo o una rotación de cultivos, las posibles alternativas de producción para el productor dentro de la región de Serdán en Puebla. En: Memorias del XXV Congreso Nacional y V Internacional de Fitogenética 2014. San Luis Potosí, San Luis Potosí, México.

Ramón Díaz-Ruiz, Bladimir Jordán-Aguilar, María Teresa Rodríguez-González2, Carmen Jacinto-Hernández. Variación de caracteres para considerar en el mejoramiento y Contenido de taninos en variedades de haba. XII Simposium Internacional y VII Congreso Nacional de Agricultura Sostenible 2013. Puebla, Pue.

Dogan R., Goksoy T.A, Yagd K., Turan M.Z. Comparison of the effects of different crop rotation systems on winter wheat and sunflower under rain-fed conditions. African Journal of Biotechnology Vol 7 (22), pp 4076-4082, November, 2008. Academic Journal. Victoria Island, Lagos, Nigeria.

Hernández Díaz-Ambrona C. G 2004. Lección 9: Indicadores para los Sistemas Agrarios. Correspondiente al temario de Producción Agraria Sostenible, ETSI Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

INEGI 2015. Censo Agropecuario y Forestal del Estado de Puebla 2014, Instituto Nacional de Estadística e Informática, México.

Juárez S. P., y Ramírez V. B. 2001. Estimación de rendimientos del Plan Llanos de Serdán ciclo P.V. 2000, CEICADAR, Instituto de Socio economía, Campus Puebla, Colegio de Postgraduados.

Díaz-Ruiz R. 2009. Diversidad morfológica de las habas (*Vicia faba* L.) cultivadas en regiones productoras de México y rendimiento de grano. *In*: Tecnologías de granos y semillas. Libros Técnicos: Serie Agricultura. Martínez R. R, Rojo M. G. E., García G. C., Ramírez V. B. (Coordinadores). Universidad Autónoma Indígena de México, CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa, Colegio de Postgraduados-Campus Puebla. México. pp 263-278.

Mohler Ch L. and Johnson S. E. 2009. Crop Rotation on Organic Farms. A Planning. Manual. By Mohler Ch L. and Johnson S. E Editors, Natural Resource, Agriculture, and Engineering Service, Ithaca, New York.

Mancera O, Astier M, López-Ridaura S. 2000. Sustentabilidad y manejo de Recursos Naturales. El Marco de Evaluación MESMIS. Grupo Interdisciplinario de Tecnología Rural Apropiada A. C. Mundi-Prensa México, México.

Moncada K, Sheaffer C., Stordahi J. 2010. Chapter 14: Alternative Crops. In: Organic Risk Management, Tools for Managing Pest and Environmental Risks to Organic Crops in the Upper Midwest. Editors Moncada K, Sheaffer C. The University of Minnesota, USA.

Nel AA y Loubser HL 2004. The impact of crop rotation on profitability and production risk in the eastern and north western free state. Agrekon, Vol 43, No 1, pages 101-111 (March 2004). AgEkon Search, Research in Agricultural and Applied Economics, University of Minnesota Department of Applied Economics, USA.

Díaz Ruiz Ramón, Contreras Ramos Juan, Casiano Ventura Miguel Ángel. 2017. Conocimiento y Testimonio de los Agricultores Sobre la Diversidad de Cultivos y los Factores Climáticos en la Región Oriente de Puebla. Manejo y Conservación de Recursos Genéticos. Agricultura Sostenible Como Base para los Agro negocios. Primera Edición, Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Versión Electrónica Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible A.C.

Jaramillo VJL (2015). Estudio Estratégico: Evaluación y Determinación de la Escala Mínima Rentable, de Unidades Productivas para Emprendedores en el Campo Poblano. Comité Técnico Estatal del Estado de Puebla. SAGARPA, Delegación del Estado de Puebla.

Martínez H; Fuentes E; Espoz J; Acevedo HE (2008). Carbono orgánico y propiedades del suelo. J. Soil Sc. Plant Nutr. 8 (1): 68-96.

CAPÍTULO 5

CARACTERÍSTICAS DE LAS FAMILIAS QUE INTEGRAN LA RED DE MERCADOS AGROECOLÓGICOS CAMPESINOS DEL VALLE DEL CAUCA – REDMAC

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissao: 30/05/2022

Carlos Arturo Aristizábal-Rodríguez
Doctorado en Agroecología (c), Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Programa de Apoyo a Estudios Doctorales, Zef (Uni-Bonn) – IDEA (Unal)
https://orcid.org/0000-0001-6135-4572

Diego Iván Ángel Sánchez
Doctor en Agroecología. Profesor Asociado, Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira
https://orcid.org/0000-0003-1943-1647

RESUMEN: La Red de Mercados Agroecológicos Campesinos del Valle del Cauca – REDMAC, fundada en el año 2009, gracias a iniciativas tanto de los agricultores como de diferentes instituciones, agrupa 14 mercados tipo feria en los municipios de Sevilla, Tuluá, Buga, Restrepo, Dagua, Guacarí, Palmira y Cali. Mercados que a su vez están compuestos por alrededor de 300 familias y 60 organizaciones de base. La presente ponencia presenta los resultados de un estudio que tuvo como objetivo caracterizar las condiciones socioeconómicas y productivas de las familias que integran la organización, para lo cual se visitaron las fincas pertenecientes a 18 familias que se dedican a la producción agroecológica, seleccionadas a través de muestreo por conveniencia. Los resultados dejan ver que las familias son en su totalidad propietarias de predios entre 0,5 y 28,8 has, ubicados en su mayoría en zona de ladera. Por otro lado, el 100% tiene acceso al menos a uno de los servicios públicos domiciliarios y un 27% puede acceder a más de una fuente de agua para consume familiar y de la finca. Además, puede verse que la totalidad de las familias cuenta con algún tipo de capacitación formal o no formal y en este caso es importante el componente agroecológico, lo que puede asociarse a las apreciables superficies dedicadas a la conservación natural, con un 18% en promedio. Las fincas gozan además de una alta integración del componente animal al agroecosistema y una baja dependencia de insumos externos, lo que se refleja en su gran agrobiodiversidad.

PALABRAS CLAVE: Agroecología; agricultura familiar; circuitos cortos de comercialización; soberanía alimentaria.

CHARACTERISTICS OF THE FAMILIES THAT MAKE UP THE NETWORK OF PEASANT AGROECOLOGICAL MARKETS OF VALLE DEL CAUCA - REDMAC

ABSTRACT: The Network of Peasant Agroecological Markets of Valle del Cauca - REDMAC, founded in 2009, thanks to initiatives from both farmers and different institutions, brings together 14 fair-type markets in the municipalities of Seville, Tuluá, Buga, Restrepo, Dagua, Guacarí, Palmira and Cali. Markets that in turn are made up of around 300 families and 60 grassroots organizations. This paper presents the results of a study that aimed to characterize the socioeconomic and productive conditions of the

families that make up the organization, for which the farms belonging to 18 families that are dedicated to agroecological production were visited, selected through convenience sampling. The results show that families are entirely owners of properties between 0.5 and 28.8 hectares, located mostly in hillside areas. On the other hand, 100% have access to at least one of the household public services and 27% can access more than one source of water for family and farm consumption. In addition, it can be seen that all the families have some type of formal or non-formal training and in this case the agroecological component is important, which can be associated with the appreciable areas dedicated to natural conservation, with an average of 18%. The farms also enjoy a high integration of the animal component into the agroecosystem and a low dependence on external inputs, which is reflected in their great agrobiodiversity.

KEYWORDS: Agroecology; family farming; short marketing circuits; food sovereignty.

INTRODUCCIÓN

La Red de Mercados Agroecológicos Campesinos del Valle del Cauca – REDMAC, fue fundada en el año 2009 para agrupar catorce mercados tipo feria en diferentes municipios del departamento, a través de un acuerdo de voluntades entre más de 300 familias y 60 organizaciones de base dedicadas a la producción agropecuaria ecológica. Todo con el impulso de diferentes instituciones que apoyaron el proceso y siguen vinculados a él, como es el caso del Grupo de Investigación en Agroecología – GIA de la Universidad Nacional de Colombia, a través de diferentes trabajos de investigación y de extensión universitaria (Ángel, *et al.,* 2009). Como es el caso de la tesis doctoral titulada "Fortalecimiento de la estrategia de Resistencia local de la Red de Mercados Agroecológicos Campesinos del Valle del Cauca – REDMAC", de la que hace parte este trabajo, que a su vez pretende responder al objetivo de diagnosticar los procesos productivos, organizativos y de comercialización de la REDMAC. Para ello, buscó afincarse en los conceptos de agricultura familiar campesina (FAO, BID, 2007; MADR, 2017), multifuncionalidad de la agroecología (Acevedo-Osorio, 2016), agrobiodiversidad (Titonell y Grazia, 2011), dimensión socioeconómica y cultural de la agroecología (Guzmán et al., 2000) y los principios de la agroecología (Altieri, 2009).

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en dieciocho fincas pertenecientes a familias miembros de los mercados agroecológicos de los municipios de Sevilla, Tuluá, Buga, Dagua, Restrepo, Palmira y Cali en el Valle del Cauca, que fueron indagadas a través de técnicas como la entrevista semiestructurada, la observación participante y el mapa de finca. Dichas familias fueron seleccionadas a través de la técnica de muestreo por conveniencia, debido a su característica principal de producción ecológica y compromiso con la agroecología.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El estudio arrojó que la totalidad de familias son dueñas de su tierra, con extensiones entre 0,57 y 28,8 has por predio, los cuales se ubican en un 80% en zona de ladera. Se encontró que el 100% de las familias cuenta con cobertura de al menos un servicio público y entre ellas, el 94% disfruta de energía eléctrica permanente, el 50% de ellas está conectada a un acueducto veredal para abastecerse de agua y el 27% tiene acceso a diversas fuentes de agua, tales como aljibes y nacimientos, adicional al acueducto. Mientas que el 72% usa gas propano para cocinar sus alimentos y además el 55% cuenta con más de una fuente energética para cubrir la misma necesidad. Estos datos muestran que la opción por la agroecología le ha dado a las familias que optaron por ese camino, un nivel de vida más elevado que el promedio nacional de habitantes rurales.

Los grupos etarios que predominan dentro de las familias investigadas son entre 51 y 80 años con el 34% y de 36 a 50 con el 21%, que sumados arrojan más de la mitad de las personas, cifra que es similar al de las familias que no se dedican a la agroecología y habitan la misma región, lo que muestra la necesidad de estructurar y ejecutar programas de inclusión generacional para continuar con el proceso de masificación de la agroecología. De igual manera, la proporción entre hombres (49%) y mujeres (51%), es similar al de la media nacional. En contraste con lo anterior, se encontraron alentadoras cifras relativas al nivel educativo de las familias, las cuales muestran que el 100% de ellas ha asistido o asiste con frecuencia a cursos de capacitación, mientras que aproximadamente un 35% cuenta con estudios de nivel técnico o universitario, aspecto que se relaciona directamente con el compromiso que tiene la familia con la producción ecológica.

Dicho nivel de compromiso con la agroecología se manifiesta a través del promedio del 18% de los predios destinado a la conservación y regeneración natural, en el que se encuentran en promedio hasta 300 especies vegetales documentadas, lo cual también es una muestra de la importante agrobiodiversidad presente en las fincas analizadas. Este factor también se corrobora con un nivel alto de integración de los animales en el agroecosistema que también se manifiesta en una menor dependencia de insumos externos. La agrobiodiversidad también se hace palpable a través de la amplia oferta de productos que se presenta en los mercados, entre los que se encontraron productos transformados, aseo y cosméticos, frutas, verduras y hortalizas, aromáticas y medicinales, tubérculos, proteína animal, legumbres, ornamentales e insumos agrícolas de origen biológico (figura 1). Lo que muestra que la agrobiodiversidad que se encuentra en las fincas, se expresa en los mercados a través de la oferta diversa de productos. Asunto que también redunda en la conservación de la memoria biocultural de las familias y de las comunidades de su área de influencia. Dichas familias priorizan además la producción de alimentos para su autoconsumo, por lo que puede decirse que han podido consolidar su soberanía alimentaria.

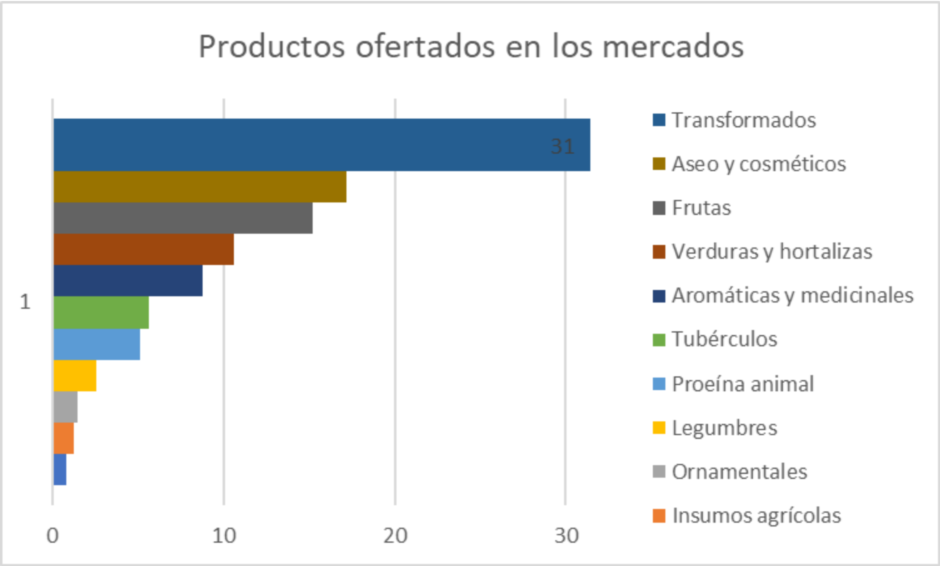


Figura 1

Fuente: elaboración propia

CONCLUSIONES

Se concluye que una mayor agrobiodiversidad se traduce en mayor autonomía alimentaria para las familias y además en una diversificación y estabilización de sus fuentes de ingresos, que al final se reflejan en mejores niveles de vida.

En el contexto actual de pérdida de la salud humana y de los ecosistemas, se hace necesario apoyar la producción agroecológica desde diversos estamentos de la sociedad, es decir, desde el nivel institucional mediante apoyo técnico, educativo y financiero, hasta el consumo para fomentar la oferta a través de la ampliación de la demanda.

REFERENCIAS

Acevedo-Osorio, Á. (2016). Contribuciones y retos de la agricultura familiar en Colombia. En Á. Acevedo-Osorio y J. Martínez-Collazos (comps.) (2016). *La agricultura familiar en Colombia. Estudios de caso desde la multifuncionalidad y su aporte a la paz*. (pp. 31-45) Bogotá: Ediciones Universidad Cooperativa de Colombia - Corporación Uni- versitaria Minuto de Dios - Agrosolidaria. doi: http://dx.doi.org/10.16925/9789587600476

Ángel, D., Aristizábal, C., REDMAC. (2019). Construyendo desde la base una opción de vida: experiencia de la Red de Mercados Agroecológicos Campesinos del Valle del Cauca – REDMAC. En A. Acevedo-Osorio y N. Jiménez-Reinales (comps). La agroecología. Experiencias comunitarias para la agricultura familiar en Colombia. (pp.161-181). Bogotá: Corporación Universitaria Minuto de Dios – UNIMINUTO, Editorial Universidad del Rosario. Recuperado de https://editorial.urosario.edu.co/pageflip/acceso-abierto/agroecologia-experiencias- comunitarias-para-la-agricultura-familiar-en-colombia.pdf

Altieri, M., (2009). El estado del arte de la agroecología: Revisando avances y desafíos. En Altieri, M. (compilador). Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones. SOCLA. Medellín. Colombia.

Bélières, J. F., Bonnal, P., Bosc, P. M., Losch, B., Marzin, J., & Sourisseau, J. M. (2014). Les agricultures familiales du monde: définitions, contributions et politiques publiques (No. 28). AFD. Recuperado de http://agritrop.cirad.fr/574772/1/document_574772.pdf

Comunidad Andina de Naciones (2011). Agricultura familiar agroecológica campesina en la comunidad andina. Una opción para mejorar la seguridad alimentaria y conservar la biodiversidad. Secretaria General de la Comunidad Andina. Recuperado de http://www.comunidadandina.org/StaticFiles/2011610181827revista_agroecologia.pdf

Guzmán, G., González de Molina, M., Sevilla, E. (2000). Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Tittonell, Pablo., Grazia, J. (2011) Un marco conceptual para la identificación y evaluación de alternativas agroecológicas en investigación. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 6 (2), pp. 3-12.

CAPÍTULO 6

COMPARACIÓN DEL RENDIMIENTO EN LABORES AGRÍCOLAS MECANIZADAS ENTRE AGRICULTURA DE PRECISIÓN Y MANEJO CONVENCIONAL EN GRANJAS DE TOLIMA Y HUILA

Data de aceite: 19/07/2022

Juan José Ortiz-Rodríguez
Ingeniero Agrícola, Universidad Surcolombiana. Ingeniero de apoyo a proyectos de ingeniería, FUNDISPRO
Neiva, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-7227-1553

Juan Gonzalo Ardila-Marin
Magíster en Gestión Energética Industrial, Instituto Tecnológico Metropolitano – ITM. Docente de Planta, Universidad Surcolombiana – USCO
Neiva, Colombia
https://orcid.org/0000-0003-4461-7195

Diana Carolina Polania-Montiel
Magíster en Geomática, Universidad Nacional de Colombia – UN. Docente de Planta, Universidad Surcolombiana – USCO
Neiva, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-5306-6431

RESUMEN: Los agricultores colombianos, especialmente los pequeños y medianos, se encuentran rezagados en implementación de tecnologías, muchos desconocen la agricultura de precisión. El objetivo de este proyecto fue fomentar la implementación de buenas prácticas agrícolas, enfocadas en la mecanización agrícola con equipos de agricultura de precisión (Agricultural Management Solutions – AMS®), a través de la comparación en el rendimiento en el uso de maquinaria de forma convencional contra el uso de nuevas tecnologías para el beneficio agronómico, económico, y ambiental. Gracias al apoyo de CasaToro S.A. (Ibagué), con su línea agrícola John Deere®, fue posible implementar los equipos StarFire TM6000®, Monitores 4240®, Auto Track 200® JDLink® en Tractores 6110M®, 6175M® y 6603® y cosechadoras 6300® Mecánica y 1175® Hidro, y el uso del software T3RRA CUTTA® y la JDLink Mobile APP®; se realizaron pruebas en campo y para el tratamiento de los datos recolectados se utilizó el software SISVAR®, encontrando diferencias significativas en el trazado de curvas de nivel con ahorros de hasta el 30% del tiempo necesario, y en la labranza con rastra de hasta el 13% de rendimiento en ha h^{-1}; en las pérdida de grano en las cosechadoras se obtuvo 336 kg ha^{-1} y 600 kg ha^{-1} en la Mecánica, contra 288 kg ha^{-1} y 560 kg ha^{-1} para la Hidro, en plataforma y en zaranda, respectivamente, aunque se determinó que las diferencias no eran significativas. Se concluyó que, en Tolima y Huila, con extensas áreas de producción agrícola, la implementación de AMS® puede mejorar rendimientos y disminuir costos.
PALABRAS CLAVE: Producción agrícola; Mecanización agrícola; Agricultural Management Solutions (AMS).

1 | INTRODUCCIÓN

La agricultura al ser la principal fuente de producción de alimento en el mundo, necesita contar con nuevas tecnologías que ayuden con los procesos de producción, antes, durante y después de la cosecha, la agricultura de precisión ha demostrado ser de mucho ayuda en

el manejo y uso adecuados de los suelos y los cultivos establecidos en el, teniendo presente la variabilidad presente en el mismo, esto gracias a que agricultura de precisión (AP) involucra tecnologías de Sistemas de Posicionamiento Global (GPS), sensores, satélites e imágenes aéreas junto con Sistemas de Información Geográfico (SIG) para estimar, evaluar y entender dichas variaciones (Díaz & Pérez, 2007; Marote L, 2010; Castellanos & Perez Morales, 2016). La literatura ha hecho énfasis en los amplios beneficios de la AP, desde el punto de vista económico como medioambiental (Zhang, et al., 2002).

Cuando se incentive la aplicación de la Agricultura de Precisión y se generalice a los principales cultivos del país sembrados en grandes extensiones de tierra, los cuales requieren de labores mecanizadas, se lograrán ahorros importantes a la economía y se reducirán las afectaciones medioambientales, al controlar el uso de fertilizantes químicos y limitarlos sólo a aquellas zonas en que por su carencia sea necesaria su aplicación (Quevedo, et al., 2006), a su vez aplicando una cantidad exacta de fertilizantes los rendimientos de los cultivos pueden duplicarse o más aun triplicarse (FAO, 2002), teniendo en cuenta que estamos sujetos al cambio climático con posibles efectos negativos sobre los cultivos en algunas regiones (Wheeler & Von Braun, 2013). Los estudios frente a la adopción de AP resaltan que, si se pretende generar altos ingresos con estas tecnologías, se debe implementar en grandes extensiones de área (Cullen, et al., 2013), esto manifiesta la capacidad de adaptarse a algunos riesgos en la inversión de tecnologías más nuevas y grandes (Paustian & Theuvsen, 2017).

En los departamentos del Huila, Tolima, Caquetá y Putumayo, los estudios realizados con agricultura de precisión son muy pocos y no se encuentran registro de ellos, y por lo tanto no es muy implementada, estos departamentos por su gran producción agropecuaria son potenciales usuarios de estas tecnologías. Actualmente el Sena tiene en su oferta académica, carreras técnicas como agricultura de precisión y mecanización agrícola (SENA, 2020), lo cual ayudaría a la implementación de estas tecnologías en el agro en estos departamentos, otras entidades privadas como CasaToro S.A., Jhon Deere y Fomenta, se encuentran de lleno trabajando en la aplicación de estas nuevas tecnologías, dictando cursos de mantenimiento, calibración y operación de estos equipos a personas que se encontrarán en constante contacto, para lo cual deben tener un conocimiento amplio de su funcionamiento. Al implementar esta nueva forma de agricultura el operador tendrá que aumentar su conocimiento cultural, científico y técnico, con el propósito de realizar una buena manipulación de estas modernas técnicas altamente sensibles (Quevedo, et al., 2006).

Los estudios sobre la adopción de AP enfatizan que los adoptantes tienden a operar un área agrícola más grande y posteriormente generan un ingreso más alto. Por otro lado, los efectos que tiene la maquinaria sobre el medio ambiente no han sido los mejores, las máquinas son las unidades energéticas para el trabajo agrícola, estas producen un impacto negativo sobre el entorno ambiental sobre los suelos, las aguas y la atmósfera

(Hunt, 1983), con la implementación de equipos AP, se pretende optimizar el uso de los recursos naturales, bajar costo de producción, disminuir la contaminación ambiental, la degradación de los suelos agrícolas y aumentar la producción, disminuyendo la utilización de plaguicidas y fertilizantes en la actividad agrícola para obtener una disminución en la contaminación de suelos y fundamentalmente del agua, tanto superficial (ríos, lagos) como subterránea (acuíferos) (Martino, et al, 2009).

El proceso de transición de labranza convencional con máquinas cien por ciento mecánicas a máquinas con tecnología es complejo, ya que la mayoría de los operarios son personas de edad y algunos son reacios a estas tecnologías, con demostraciones en campo, capacitaciones se podrá disminuir ese sentimiento de escepticismo por parte de los operarios respecto a los avances tecnológicos, como el piloto automático y otros equipos AP y Agricultural Management Solution (AMS). En lo que respecta a la edad del agricultor, los agricultores jóvenes tienen una mayor capacidad para decodificar nueva información y buscar la herramienta adecuada para apoyar la producción (Barnes, y otros, 2019) por ende se necesitan personas con los conocimientos necesarios, la capacidad de transmitir esta información e incentivar a las personas directamente involucradas con la producción, se podría obtener un agro vanguardista con una agricultura moderna. En este sentido, la aplicación de AP puede mejorar la sostenibilidad y la competitividad de la agricultura colombiana, teniendo un plus frente al mercado internacional.

En la presente experiencia, durante 6 meses, se realizaron pruebas, demostraciones y capacitaciones a operadores con equipos de agricultura de precisión, se seleccionaron algunas granjas específicas que contaban con maquinaria adecuada y tiempo suficiente para la realización de estas actividades que se detallan en las Tablas 1 y 2.

1	Instalación de Autotrack 200, Monitor 4240 y JDLink (Agrícola Foseca)
2	Proceso de levantamiento con equipos de AMS (Agrícola Fonseca)
3	Instalación de equipos de nivelación iGrade (Hacienda Pajonales)
4	Instalación de equipos de control de flota Auteq 3200 (Hacienda Pajonales)
5	Capacitación a operadores en operación Auteq 3200 (Hacienda Pajonales)
6	Instalación Autotrack hidráulico (Espinal)

Tabla 1. Actividades realizadas

1	Curvas de nivel con equipos AMS Vs curvas de nivel convencional
2	Labranza con rastra con equipos AMS Vs labranza convencional
3	Perdidas de semilla en siembra con AMS Vs siembra convencional
4	Pruebas de pérdidas de cosechadoras John Deere 1175 Hydro y 6300 Mecánica (Purificación)

Tabla 2. Pruebas realizadas

2 I METODOLOGÍA

2.1 Instalación de Autotrack 200, Monitor 4240 y JDLink (Agrícola Fonseca)

Se viaja hasta el municipio Puerto Boyacá, que se encuentra a 4 horas aproximadamente de la ciudad de Ibagué. Una vez allí se desplaza hasta una vereda del municipio de Puerto Boyacá, donde será el lugar de trabajo.

Una vez en el sitio, se consiguió acomodación ya que la estancia en la vereda seria poco más de una semana, el proceso de instalación se realizó en dos días, en el primero se preparó el tractor en el cual se instalaron todos los equipos, ese mismo día se desmontó parte de la cabina para poder trabajar mejor y se alistaron todos los equipos, herramientas y demás elementos necesarios para la instalación. Al día siguiente, se comenzó con las instalaciones:

2.1.1 Starfire6000 (receptor):

Este equipo se debe instalar en la parte superior de la cabina, y centrado respecto a los ejes, esto se realiza con ayuda de un bastidor que se instala encima del tractor con dos tuercas, dos tornillos y algunos suplementos para darle altura y nivel al bastidor. Seguidamente se ajusta el soporte del StarFire6000 que se instala en el bastidor, este se ajusta en la parte central del mismo bastidor y del mismo tractor, finalizando este proceso, se procede al ajuste del StarFire6000 en su respectivo soporte. Este equipo funcionaría como receptor ya que recibirá la señal de otro StarFire6000 que estará como base.

2.1.2 StarFire6000 (emisor):

Este equipo es configurado como base y fue el encargado de enviar la señal al StarFire6000 que se encuentra en el tractor. Para la configuración de este se debe conectar al tractor. Una vez conectado en el monitor se configura la señal del equipo como si fuera base de estudio rápido, ya que, si este equipo se estuviese moviendo, tendría que modificar su posición GPS, realizada esta acción, se monta el StarFire6000 en un trípode, su ubicación debe ser preferiblemente en una parte alta, donde se logre observar todo el terreno a trabajar, esto con el objetivo de que no haya obstáculos que puedan interferir con la señal y comunicación entre los equipos. Este StarFire6000 debe estar alimentado con una batería de corriente constante (12 Voltios), en este caso la alimentación se realizó con una batería de moto.

2.1.3 AutoTrack 200 o piloto automático:

Para la instalación de este, se retira el volante original del tractor y se remplaza por el nuevo equipo. Este se encaja con la caña del tractor y se ajustan las tuercas que se encuentran en el equipo, esto con el objetivo de que cuando el motor del AutoTrack 200 no

gire cuando este comience a funcionar, ya que se quiere que solo gire el volante y no todo el equipo.

2.1.4 Monitor 4240:

Es una pantalla de 8,4 pulgadas, esta se instala en la parte izquierda de la cabina, con antelación se realizó un soporte para el monitor, se hizo el montaje del soporte y el monitor con ayudas de unas mariposas que se encuentran en la parte trasera de los monitores.

2.1.5 Arnés Universal:

A este conjunto de cables se empalma el AutoTrack 200, Monitor 4240 y StarFire6000, estos se conectan entre sí para su correcto funcionamiento. La alimentación de estos equipos es obtenida de la batería del tractor, por lo tanto, el arnés es conectado desde la batería, este arnés pasa por un lado del motor conectándose una derivación al alternador, entra a la cabina por la parte inferior de la misma y dentro de la misma se reparten las conexiones de los equipos, para su posterior alimentación y funcionamiento.

2.1.6 JDLink:

Es una computadora que se instala dentro de la cabina, su ubicación no es exacta, por lo tanto, se puede montar en cualquier parte de esta, preferiblemente no muy visible. Este equipo es alimentado directamente de la batería, el cual se puede conectar al arnés universal o conectando directamente a una la batería junto al bloque de empalme del suiche del tractor.

Todas estas instalaciones se realizaron en un tractor 6603 de 125 HP.

2.2 Proceso de levantamiento con equipos de AMS (Agrícola Fonseca)

Finalizado el proceso de instalación de los equipos de precisión se realizó a una breve explicación al operario de cómo se deben operar los quipos, principalmente el monitor 4240 y el AutoTrack 200, como se describe a continuación:

Para el inicial el levantamiento del terreno se debe configurar en el monitor y seleccionar la función de campos y contornos, allí se comenzará a delimitar el lote, el tractor debe ir por todo el límite del lote grabando todo su recorrido, para finalizar el límite, el tractor debe llegar donde comenzó a realizar el recorrido para que los equipos cierren el área. Una vez hecho el límite se hace el levantamiento del terreno, para este acción se debe configurar en “labor a realizar”, allí se selecciona la actividad de levantamiento y se procede inicialmente a recorrer el lote de extremo a extremo, antes de realizar este recorrido se selecciona “iniciar trazada” allí se tomarán dos puntos, uno inicial, el cual será uno de los extremos del lote y el punto final será el otro extremo del lote y se trazará

una línea recta entre estos puntos y aparecerán varias líneas a una distancia determinada por nosotros, el tractor debe recorrer todas estas líneas marcadas en el monitor, ya que mientras las recorreré los equipos van tomando punto de altimetría en todo el lote.

Finalizado los procesos de levantamiento, se extrae la información del lote en una USB para la transformación de los puntos de altimetría tomados en un mapa de elevación, esto se realiza mediante el programa T3RRA design (T3D), hecho el mapa de levantamiento se realizan las cuervas de nivel de acuerdo con la topografía del terreno, la distancias entre las curvas o las pendientes, puede ser modificada y así determinar el mejor diseño de curvas.

En casos donde los lotes no son uniformes, se puede realizar el diseño de las curvas, dividiendo el lote en sub-lotes y así hacer diferentes diseños dentro del mismo lote para un mejor manejo del recurso hídrico.

Realizado el diseño de las curvas de nivel se introducen en un USB y la misma se ingresa en el monitor para extraer la información, hecho este pasó, se desplaza hasta el lote, se seleccionan las curvas de nivel y se procede a la realización de estas en el lote con ayuda de la Taipa

2.3 Instalación de equipos de nivelación iGrade (Hacienda Pajonales)

Se instalan 4 equipos de nivelación John Deere iGrade, estos equipos se instalan en los 4 tractores 6110M, dos equipos nuevos y otros dos equipos que estaban en la hacienda.

Inicialmente se mandaron hacer 2 soportes para monitor y 2 soportes de suiche para los nuevos equipos, estos se construyeron en el taller de la misma hacienda con las especificaciones dadas, en el montaje de estos soportes de pantalla se retira la tapa plástica del soporte lateral de la cabina, a la tapa retirada se le abre un agujero para montar un tornillo que servirá como seguridad al soporte, se monta nuevamente la cobertura plástica con el tornillo y el soporte, para posteriormente realizar el montaje de la Tablet.

El montaje de los suiches se realizó en la parte lateral del asiento del conductor debajo del apoyabrazos, para que este quedará al alcance del operador sin necesidad de realizar demasiados movimientos.

Para la instalación de los arnés, se desmonta la cubierta del control de mandos que se encuentra en la parte derecha del operador, también se retira la taba que cubre el bloque de empalme de los fusibles, allí en esa parte se retira un tapón en el cual se introduce el arnés que controla el movimiento de la pala, una vez conectados los arnés y montados los soportes de conexiones que se instalan en la parte trasera, se procede a la conexión de los equipos, suiche, Tablet, y bloque de empalme que se encuentra en la parte trasera del asiento del operador, de allí es donde se toma la energía que alimenta estos equipos y envía la información desde la Tablet hasta el sistema hidráulico del tractor para que este realice su trabajo.

2.4 Instalación de equipos de control de flota Auteq 3200 (Hacienda Pajonales)

Los equipos de control de flota se instalaron en toda la nueva flota adquirida por la hacienda los cuales fueron 7 tractores 5055E, 2 tractores 5090J, 4 tractores 6110M y 5 tractores 6175M, la instalación de estos se realizó con el objetivo de automatizar la flota, control de actividades y eficiencia del operador.

El control de flota cuenta con un monitor (PC) Auteq 3200, antenas GPS, GRPS y SIM, con su respectivo arnés de alimentación, el cual se conecta de la batería y del alternador para tomar información respeto a las revoluciones del motor, todo esto conectado por medio inalámbrico a una plataforma GF Explore.

En los tractores 5055E, se destapó el capó para trabajar más cómodo, la conexión del mando de cables de alimentación se realizó directamente de la batería, este mismo arnés o mando de cables se distribuyó desde la parte delantera del tractor, donde se encuentra la batería hasta la parte trasera del asiento del conductor, en la trayectoria del arnés se divide un cable el cual se conecta al alternador. Para el montaje del Auteq3200 se les pidió el favor a los de taller que realizaron unas láminas en forma de L como soporte, el cual estaría ubicado en la parte derecha del soporte lateral del techo, para protegerlo de la lluvia, terminado el montaje del soporte, se instaló el equipo en el soporte para su conexión con el arnés de alimentación y posterior montaje de una alarma en la parte de abajo del asiento del conductor, esta alarma servirá como aviso cuando el operario este realizando alguna actividad mal. A los tractores 5090J se les realizó el mismo procedimiento para la instalación del equipo de control de flota.

Para los tractores 6110M y 6175M los cuales con cabinados, el montaje el Auteq 3200 fue diferente y un poco más fácil, ya que se instaló en la parte inferior del monitor 4600 que se encuentran instalados desde fábrica en los tractores. Para la instalación se elevó el capó del tractor para trabajar más cómodo, se realizó la conexión del arnés de alimentación a la batería y al alternador, el arnés se distribuyó desde la batería hasta la parte inferior de la cabina, en la cual pasaron el arnés por unos agujeros que se encontraban allí, hasta sacar una parte del arnés por la parte de adelante del volante y otra por el tapete. Los cables que se sacaron por la parte delantera del volante son los que conectan con la alarma y los cables de salieron por el tapete se conectan a la Auteq 3200. Este procedimiento se les realizó a todos los tractores cabinados 6110M y 6175M.

Para lo referente a la plataforma GF Exploret, allí se realizó toda la parametrización de las activadas que realizarán cada uno de los tractores, operadores, implementos, tiempos de actividades y área donde realizarán el trabajo. Esta actividad se realizó en dos semanas en los computadores de Pajonales, ya que son los encargados de manejar las plataformas y permisos de los equipos. Terminada la parametrización en la plataforma se procede a la actualización y configuración de los equipos Auteq 3200, estas actividades se realizan directamente desde la plataforma GF Exploret, con ayuda de cables de comunicación

se configura el equipo con toda la información ingresada en la plataforma y el cable de configuración se encarga de la actualización de los Auteq 3200.

Actualizados y configurados los equipos se montan en sus respectivos tractores, ya que cada tractor tiene sus actividades configuradas con su respectivo operario.

2.5 Capacitación a operadores en operación Auteq 3200 (Hacienda Pajonales)

Debido a la pandemia se realizaron tres capacitaciones con sus respectivos protocolos de bioseguridad y distanciamiento social. Las capacitaciones se realizaron en grupos de 7, 6 y 5 respectivamente, los primeros operarios de tractores 5055E, luego 5090E y 6110M por ultimo los operarios de 6175M, ya que cada máquina realizará actividades y operaciones diferentes.

En las capacitaciones se les informó temas como:

- Reconocimiento del equipo Auteq 3200.
- Cómo introducir la información principal al equipo tales como: nombre del operador, actividad a realizar, labor a realizar e implemento a usar.
- Se les informó que cada vez que realicen un cambio de labor o actividad deben ingresar esa información en el equipo, de lo contrario seguirá registrando todo el día como si solo estuviera haciendo una labor.
- Información básica de los parámetros de cada labor, como tiempo de espera, revoluciones del motor y velocidad de cada labor, ya que cada una tendrá parámetros de operación diferentes.

2.6 Instalación Autotrack hidráulico (Espinal)

En el municipio de Espinal en el Tolima, se instaló el primer Piloto automático hidráulico de la región, según especificaciones de fábrica, estos pilotos no son compatibles con tractores con circuito hidráulico cerrado, para la instalación de piloto automático se realizó una serie de modificaciones e intervenciones al sistema hidráulico del tractor para poder realizar la instalación de este sistema de guiado en un John Deere 6125E, el cual cuenta con circuito hidráulico abierto.

Para lograr que este sistema de guiado funcionará, se intervino el sistema hidráulico desde el depósito principal, hasta cada uno de los depósitos de aceite hidráulico en los ejes, conectando todos estos directamente con la electroválvula ubicada en la parte trasera, a un lado de las válvulas de mando a distancia VDM, esto con ayuda de manguera hidráulica de alta precisión y racores de 1”, ½” y ¾” para las conexiones. Esta actividad de instalación se realizó con ayuda de un técnico encargado que labora en la empresa Casatoro SA, este procedimiento de instalación hidráulica duro 2 días, esto debido al inconveniente a la hora de encontrar mangueras hidráulicas, racores, uniones y T necesarias para la instalación en el municipio. Culminada la actividad hidráulica se procedió a montaje e instalaciones eléctricas, arneses con su respectivo volante Autotrack. Se encendió el tractor para verificar

el reconocimiento del Autotrack en el monitor y su conexión.

3 l RESULTADOS

3.1 Curvas de nivel con equipos AMS Vs curvas de nivel convencional

El tiempo de realización de las curvas de nivel se disminuye hasta un treinta por ciento, dependiendo del micro relieve del terreno, temperatura y velocidad de operación del tractor a la hora de hacer las curvas, dichos tiempos se registran en las Tablas 3 y 4.

PRUEBAS CURVAS DE NIVEL						
CLIENTE	TIEMPO POR 5 HECTÁREAS (H/HA)					
	Banderillero			John Deere AMS		
Agrícola Fonseca	7	7	6.8	5	5	4.4
Hacienda Pajonales	6	5.5	6	4.7	4.4	4.5
El Espinal (Independiente)	6	5	5	5	4.6	4.5

Tabla 3. Hectáreas labradas por hora con banderillero vs Equipos de agricultura de precisión.

PRUEBAS CURVAS DE NIVEL			
CLIENTE	TEMPO POR 5 HECTÁREAS (H/HA)		
	PROMEDIO		% DE AHORRO EN TIEMPO
	Banderillero	John Deere AMS	
Agrícola Fonseca	6.9	4.8	30
Hacienda Pajonales	5.8	4.5	22
El Espinal (Independiente)	5,3	4.7	11

Tabla 4. Porcentaje de tiempo de ahorro utilizando equipos de agricultura de precisión.

De todas las pruebas, las que obtuvieron un mejor resultado respecto al rendimiento por hectárea fueron Agrícola Fonseca con un ahorro en tiempo del 30% utilizando los equipos de agricultura de precisión, seguidamente la Hacienda Pajonales con un 22% y por último el cliente del El Espinal con un 11%. Se observó una variación en los resultados obtenidos, estos pueden variar significativamente considerando el micro relieve de los lotes, si el terreno es muy quebrado, el rendimiento utilizando el banderillero, el porcentaje de error en la precisión de las curvas de nivel aumenta. Este 30% de ahorro en tiempo que se obtuvo en Agrícola Fonseca se refleja en la dificultad en el diseño de las curvas, ya que estas eran demasiado agresivas y en algunos casos el tractor realizaba un giro en 8 para retomar la curva y es tiempo que se pierde, debido a este inconveniente cuando se diseñaron las curvas se suavizaron de tal manera que las curvas muy cerradas quedaran aún más suaves y no se perdiera tiempo en la realización de maniobras extras para retomar la curva. Los resultados pueden apreciarse en la Imagen 1.



Imagen 1. Curvas de nivel realizadas con piloto automático en el municipio de Puerto Boyacá

En los terrenos de la Hacienda Pajonales y El Espinal (Independiente), la realización de las curvas no precisó de mucho esfuerzo, gracias a que el micro relieve de estos lotes poseía características homogéneas en todo el terreno, por ello las curvas eran un poco más suaves. Gracias al micro relieve de estos lotes el tiempo que se ahorró con el guiado automático disminuyó respecto al resultado obtenido en Agrícola Fonseca. El trazado en software puede apreciarse en la Imagen 2.

Analizados cada uno de los tiempos obtenidos por cliente, se observó que existen diferencias significas en los clientes Agrícola Fonseca y Hacienda Pajonales, mientras que el cliente El Espinal (Independiente) no tiene diferencias significativas en los tiempos registrados, este resultado es reflejo del porcentaje de ahorro en tiempo, ya que el cliente con menor porcentaje de ahorro en tiempo es El Espinal (Independiente) y en este no se encuentra diferencias significativas. Este hecho puede deberse al micro relieve del terreno como se explicó anteriormente.

3.2 Labranza con rastra con equipos AMS Vs labranza convencional

Las pruebas de rendimiento con piloto automático para la realización de labores de labranza primaria con arado de disco se llevaron a cabo en tres diferentes fincas, tratando de que el implemento usado para esta labor sea el mismo. El tiempo de la prueba fue de una hora, calculando el área labrada en ese mismo tiempo, usando piloto automático comprándolo con el área labrada sin piloto en ese mismo tiempo. Las Imágenes 3 y 4 permiten comparar el escenario con piloto automático y sin traslape y el escenario sin piloto automático y con traslape.

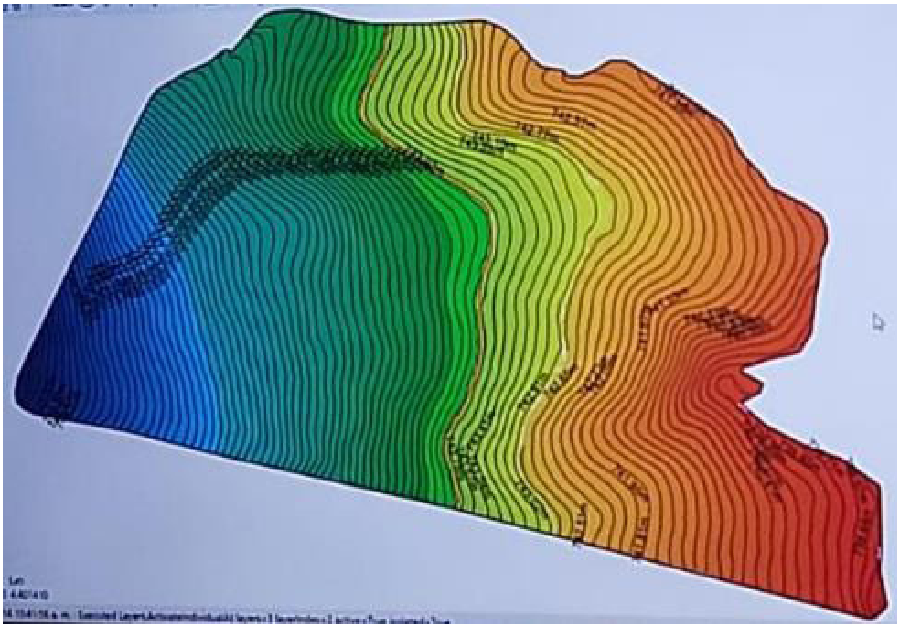


Imagen 2. Curvas de nivel del lote 112 en Hacienda Pajonales

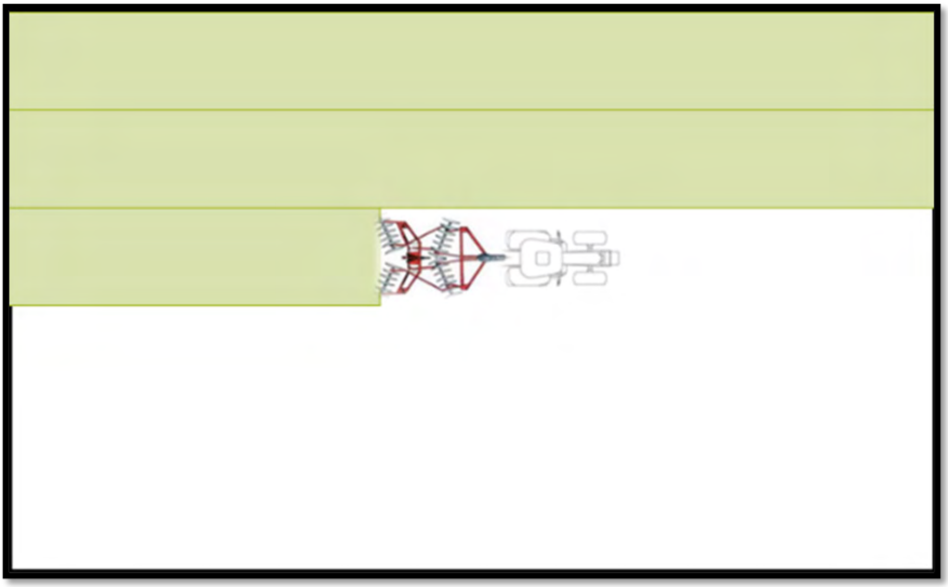


Imagen 3. Actividad de rastra con piloto automático y sin traslape

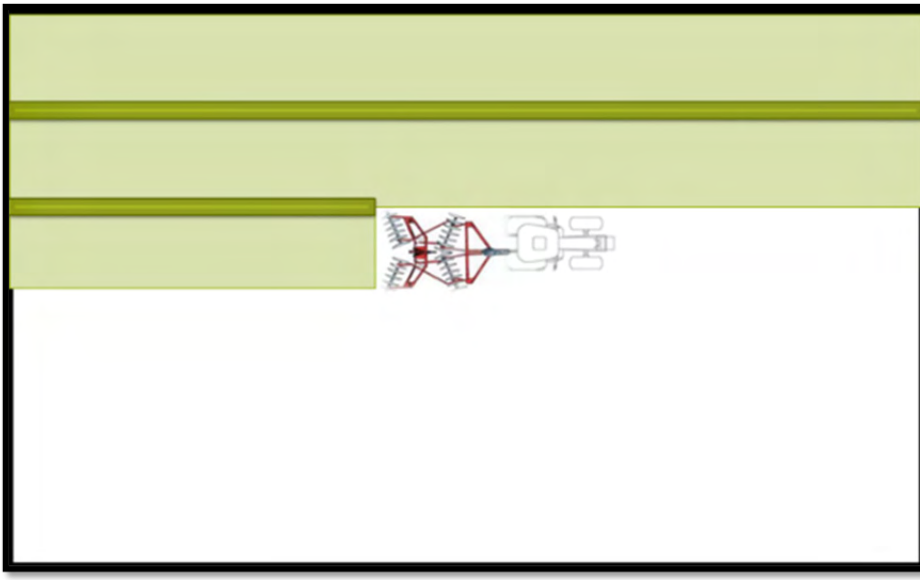


Imagen 4. Actividad con rastra sin piloto automático y traslape

En la Tabla 5 se encuentran los resultados arrojados en las pruebas de rastra con sus respectivos tiempos, implementando mecanización convencional comparando estos tiempos con los obtenidos aplicando agricultura de precisión. Se ejecutaron 6 pruebas por cada cliente, 3 sin Autotrack y 3 con Autotrack, para un total de 18 pruebas. Se evidenció el aumento de las hectáreas trabajadas implementando el guiado automático (AtuoTrack), respecto al área trabajadas sin este.

PRUEBA DE LABRANZA CON RASTRA						
CLIENTE	**RENDIMIENTO EN 1 HORA (HA/H)**					
	Sin AutoTrack			**Con AutoTrack**		
Hacienda pajonales	2,2	2,3	2,2	2,5	2,5	2,7
Hacienda El Escobal	2,3	2,2	2,4	2,4	2,5	2,6
El Espinal (Independiente)	2	2,2	2,1	2,4	2,5	2,4

Tabla 5. Hectáreas labradas por hora sin AutoTrack Vs con AutoTrack

Los promedios de las tres pruebas realizadas con y sin guiado automático se reflejan en la Tabla 6, evidenciando un mayor rendimiento en área trabajada con el guiado automático, comparando las áreas trabajadas con y sin guiado, el cliente de El Espinal obtuvo un rendimiento de 13% de más en el área trabajada utilizando el guiado automático, seguido de la Hacienda Pajonales con 12% y, por último, la Hacienda El Escobal con el menor porcentaje de 6%.

PRUEBAS DE LABRANZA CON RASTRA			
CLIENTE	RENDIMIENTO EN 1 HORA (HA/H)		
	PROMEDIO		% DE RENDIMIENTO DE MAS CON AUTOTRACK
	Sin Autotrack	Con AutoTrack	
Hacienda Pajonales	2,2	2,5	12
Hacienda El Escobal	2,2	2,4	6
El Espinal (Independiente)	2,1	2,4	13

Tabla 6. Porcentaje de rendimiento de más utilizando AutoTrack

Se observó diferencias significas en los clientes Hacienda Pajonales y Hacienda el Escobal, mientras que el cliente El Espinal (Independiente) no obtuvo diferencias significativas en las hectáreas registradas, este resultado es reflejo del porcentaje de rendimiento de más con AutoTrack, este cliente en las pruebas registró menos porcentaje de rendimiento respecto a los otros clientes.

3.3 Perdidas de semilla en siembra con AMS Vs siembra convencional

En esta prueba se tomaron las 588,23 líneas de siembra que se realizan en una hectárea, los operarios tradicionalmente remontan algunas líneas para no dejar espacios sin sembrar, en este caso se tomaron dos líneas de solape por cada pasada que se haga en campo, se calcula el número de líneas que el operador dejo de hacer por remontar, se determinan las pasadas necesarias para cubrir ese número de líneas que dejo de hacer el operador.

Para el cálculo de pérdidas de semilla se tomó el dato de peso por sucos 223,88 gr de la Tabla 16, en la determinación del tiempo de siembra por hectárea la velocidad de operación es de 7 km/h. Los resultados de estos cálculos se reportan en la Tabla 7.

CÁLCULO DE AHORRO DE SEMILLA		
	Sin Autotrack	Con AutoTrack
Número de líneas por ha	588,23	588,23
Líneas de Solape	2	0
Líneas de más a causa del solape	92	0
Pasadas de más a causa del solape	4	0
Pasadas totales	38	34
Tiempo de siembra por ha	0,66 h	0,59 h
Ahorro en tiempo	0	10%
Perdida de semilla	15,22 Kg	0 Kg

Tabla 7. Cálculo de ahorro de semilla sin AutoTrack Vs Con AutoTrack

En la Tabla 7 se aprecia que la pérdida de semilla es debido al solape que realizan

los operadores durante la labor, aumentando el número de pasadas en el lote, esto también aumenta el tiempo de siembra.

3.4 Pruebas de pérdidas de cosechadoras John Deere 1175 Hydro y 6300 Mecánica (Purificación)

Recolectados y separados los granos obtenidos mediante las pruebas de pérdidas por plataforma y zaranda, se pesan cada una de las muestras obtenidas y se realiza el cálculo de las perdidas, este análisis se reporta en las Tablas 8 y 9.

PRUEBAS DE PÉRDIDAS PLATAFORMA DE CORTE						
Muestras	COSECHADORAS					
	1175 Hidro	6300 Mecánica	PERDIDAS POR M2		PERDIDAS POR Ha	
			1175 Hidro	6300 Mecánica	1175 Hidro	6300 Mecánica
1	10 gr	5 gr	40 gr	20 gr	160 kg	80 kg
2	18 gr	21 gr	72 gr	84 gr	288 kg	336 kg
3	11 gr	14 gr	44 gr	56 gr	176 kg	224 kg
4	4 gr	19 gr	16 gr	76 gr	64 kg	304 kg

Tabla 8. Pérdidas por plataforma de cada una de las cosechadoras.

PRUEBAS DE PÉRDIDAS ZARANDA						
Muestras	COSECHADORAS					
	1175 Hidro	6300 Mecánica	PERDIDAS POR M2		PERDIDAS POR Ha	
			1175 Hidro	6300 Mecánica	1175 Hidro	6300 Mecánica
1	4 gr	6 gr	16 gr	24 gr	160 kg	240 kg
2	14 gr	14 gr	56 gr	56 gr	560 kg	560 kg
3	10 gr	13 gr	40 gr	52 gr	400 kg	520 kg
4	9 gr	15 gr	36 gr	60 gr	360 kg	600 kg

Tabla 9. Pérdidas por zaranda de cada una de las cosechadoras.

La cosechadora John Deere 6300 Mecánica en las cuatro pruebas realizadas tanto en plataforma como zaranda, obtuvo más pérdida en comparación a la John Deere 1175 Hidro. La John Deere 6300 mecánica se obtuvo pérdidas máximas de 336 kg/ha por plataforma de corte y 600 kg/ha por zaranda, por su parte la John Deere 1175 Hidro obtuvo pérdidas máximas de 288 kg/ha por plataforma de corte y 560 kg/ha en zaranda.

Uno de los factores principales de las pérdidas en esta cosechadora es la mala calibración de la velocidad del ventilador en la limpieza, demasiado abertura en la zaranda, humedad excesiva del terreno, que influye considerablemente en estas pérdidas ya que

el atascamiento de esta cosechadora es bastante común, por lo que no cuentan con transmisión doble, por lo tanto el constante vaivén de dar reversa para tomar impulso y salir del atascamiento genera movimiento en las espigas de arroz, provocando el desprendimiento de los granos, de esta manera aumentado las perdidas. Los modelos de las cosechadoras y las tecnologías en ellas inciden en el resultado de las pérdidas.

El resultado arrojado por el estudio estadístico muestra que tanto en las pérdidas por plataforma como en zaranda el valor P es mayor al valor Alpha, por lo tanto, se prueba la hipótesis nula aceptando que no existen diferencias significativas entre las pérdidas. Esto puede obedecer a la falta de datos adquiridos en la práctica por temas económicos de tiempo y disponibilidad de mano de obra para las pruebas, el análisis se basó en los valores máximos reportados anteriormente.

4 I CONCLUSIONES

- De acuerdo a todas las pruebas realizadas y los resultados obtenidos, se determina que la implementación de tecnología como la agricultura de precisión en el agro de Colombia es de vital importancia, si queremos que nuestros campesinos y productores agrícolas sean competitivos en cantidad, calidad y precio en los mercados internacionales que cada día son más exigentes, en los departamentos de Tolima, Huila, Putumayo y Caquetá que cuentan con extensas áreas de producción agrícola, la AP se muestra como una herramienta de mucha utilidad maximizando rendimientos, minimizando costos de producción en lugares en estos departamentos que pueden ser potencialmente viables.
- Mediante capacitaciones, demostraciones y pruebas en campo, los operadores captaron y asimilaron que la tecnología no suplirá la labor del operador completamente, por lo contrario que sin ellos estas labores no podrían ser posibles y por lo tanto es de suma importancia que se encuentren en la capacidad de operar estos equipos, ya que en un futuro será una extensión del tractor y herramienta fundamental para su trabajo.
- La disminución en consumo de combustible para 5 hectáreas implementando AP respecto a la agricultura convencional es de 30%, por lo tanto, el tiempo que el tractor estará encendido será menor y el tiempo de operación de cada actividad será menor, por lo que el tiempo del operador en el tractor y el desgate de los implementos será menor, siendo así más eficientes, a su vez minimizando gastos. Lo que demuestra que la implementación de la AP es beneficioso económica y ambientalmente.
- Dentro del análisis de toda la información obtenida y suministrada se estableció una metodología para la implementación de AP en cultivos de mediana y grandes extensiones donde sea económicamente viable, para cultivos como arroz, maíz, forraje y caña de azúcar.
- De acuerdo con el objetivo principal planteado, es posible afirmar que la prác-

tica ha sido exitosa, ya que se logró fomentar la implementación de AP en algunos de los municipios de Tolima, se están haciendo prácticas en los otros departamentos con el mismo fin.

- En los resultados estadísticos realizados para las pruebas de porcentaje de ahorro en tiempo y porcentaje de rendimiento de más con autotrack, se observó que al menos un grupo no estaba dentro del promedio por lo tanto había diferencias significativas en estas pruebas y se aceptaba la hipótesis alterna, en la prueba de pérdidas de grano en las cosechadoras el P value es mayor al Alpha, por lo tanto, no existen diferencias significativas en esta prueba de pérdidas.

LIMITACIONES

El manejo de los equipos en algunos casos fue lento ya que la edad avanzada de algunos operarios era limitante a la hora de captar la información suministrada, algunos de ellos nunca habían manejado uno un dispositivo táctil y les tomo tiempo familiarizarse con algunos de estos equipos, por otro lado la actitud de alguno operarios los cuales tenían la mentalidad de que estos equipos los iban a suplantar, por cual costo tiempo hacerles entender de que sin ellos estos equipos no funcionarían y estas labores no serían eficientes.

REFERENCIAS

Barnes, A., Soto, I., Eory, V., Balafoutis, A., B, S., Vangeyte, J., Beck, B. (2019). Exploring the adoption of precision agricultural technologies: A cross regional study of EU farmers. Land Use Policy, 163-174. doi: doi.org/10.1016/j.landusepol.2018.10.004

Castellamos, R. M., & Perez Morales, M. (2016). Analisis Critico Sobre La Conseptualización De La Agricultura De Precisión. Ciencia en su PC, 23-33.

Cullen, R., Forbes, S., & Group, R. (2013). Non-adoption of environmental innovations in wine growing. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 41-48. doi: doi.org/10.1080/01140671.2012.744760

Díaz Rodríguez, N., & Pérez Guerrero, J. N. (2007). Metodología Para Evaluar El Impacto De Las Maquinas Agrícolas Sobre Los Recursos Naturales Del Medio Ambiente. Revista Ciencia Holguín, 3-4.

Zhang, N., Wang, M., & Wang, N. (2002). Precision agriculture— a worldwide overview. Computers and Electronics in Agriculture, 113-132. doi: doi-org.usco.basesdedatosezproxy.com/10.1016/S0168-1699(02)00096-0.

Quevedo, H. I., Rodriguez, L. Y., Hernandez, A. P., & Freire, R. E. (2006). La Aplicación De La Agrícultura De Precisión: Su Impacto Social. Revista Cientifica Tecnicas Agropecuarias, 44.

Marote L, M. (2010). Agricultura De Precisión. Ciencia y Tecnología, 143-166.

Martino, D., Methol, M., Oleaga, A., Pirelli, H., Rodríguez, L., & Vidal, L. (2009). Cambios En El Uso De La Tierra, Capitulo 2. En D. Martino, M. Methol, A. Oleaga, H. Pirelli, L. Rodríguez, & L. Vidal, Cambios En El Uso De La Tierra (págs. 56-117). Uruguay: Geo Uruguay.

FAO. (2002). Los Fertilizante y Su Uso. Paris: Asociación Internacional de la industria de los fertilizantes (IFA).

Paustian, M., & Theuvsen, L. (2017). Adoption of precision agriculture technologies by German crop farmers. Precision Agric, 701-717. doi: doi.org/10.1007/s11119-016-9482-5

SENA. (1 de 5 de 2020). SenaSofiaPlus. Obtenido de http://oferta.senasofiaplus.edu.co/sofia-oferta/

Wheeler, T., & Von Braun, J. (2013). Impacto Del Cambio Climatico En La Seguridad Alimentaria Mundial. Revista Science, 508-513.

CAPÍTULO 7

COMPORTAMIENTO ESTRAL EN CABRAS ANÉSTRICAS ALOJADAS INDIVIDUALMENTE O EN GRUPO DURANTE EL PRIMER CONTACTO CON EL MACHO FOTO-ESTIMULADO EN MARZO

Data de aceite: 19/07/2022

Fernández García., I. G.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

González Romero., F. J.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

Sifuentes Meléndez., L. A.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

Duarte Moreno., G.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

Ulloa Arvizu., R.
Departamento de Genética y Bioestadística, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria 04510. México

Fitz Rodríguez., G.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

Martínez Alfaro., J. C.
Centro de Investigación en Reproducción Caprina (CIRCA). Postgrado en Ciencias Agrarias. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Periférico Raúl López Sánchez. 27054. Torreón, Coahuila, México

INTRODUCCIÓN

A través de procesos evolutivos los mamíferos, como los caprinos han desarrollado diferentes estrategias de adaptación para hacer frente a los cambios estacionales del clima y restringir su capacidad reproductiva en una época del año cuando las condiciones de mantenimiento son desafiantes y que los partos coincidan con la disponibilidad de alimento para la sobrevivencia de sus crías (Bronson, 1985). En los caprinos en el norte subtropical de México, la reproducción es estacional la cual está controlada por cambios en el fotoperiodo (Duarte *et al.*, 2010). En los machos de esta región la estacionalidad reproductiva se caracteriza por un periodo de reposo sexual que inicia de enero-febrero y finaliza de mayo-junio (Delgadillo *et al.,* 1999, 2002), y en las hembras

el anestro estacional inicia de enero-febrero y finaliza de agosto-septiembre (Duarte *et al*., 2008). Otro factor que afecta la reproducción en los animales es la experiencia sexual. Por ejemplo, en los ovinos, las borregas sin experiencia sexual disminuyen las conductas sexuales durante el primer contacto con los carneros (Gelez *et al*., 2004). El objetivo del presente estudio fue determinar si las cabras anéstricas sin experiencia sexual muestran actividad estral expuestas a machos cabríos fotoestimulados.

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se llevó a cabo en Torreón, Coahuila (latitud, 26°23' N, longitud, 104°47' W). Se utilizaron veinte hembras caprinas que nacieron en diciembre 18 ± 1 día (media ± eem) y se destetaron a los 40 días. Las hembras fueron separadas en dos grupos (10 cada uno). Un grupo fue puesto en un corral (5 x 8 m), el siguiente, cada hembra fue alojada individualmente en un corral (2 x 1.5 m). Los dos grupos de hembras fueron aisladas de machos cabríos. Se utilizaron machos cabríos (*n* = 5/grupo) que fueron sometidos a un tratamiento fotoperiódico del 1 de noviembre al 16 de enero. Los corrales donde se alojaron los machos fueron equipados con lámparas fluorescentes de 75 watts cada una. La intensidad luminosa fue de al menos 300 lux al nivel de los ojos de los animales. Las lámparas se encendieron de 06:00-08:00 h y de 18:00-22:00 h. En marzo 24, cuando las hembras tenían 15 meses de edad fueron puestas en contacto con los machos fotoestimulados (10 hembras:1 macho). Las hembras y los machos permanecieron juntos por 15 días durante las 24 h. La proporción de hembras en estro se registró de 08:00 a 08:30 h y de 18:00 a 18:30 h. Los machos fueron intercambiados a las 08:00 y 18:00 h. En los machos se registró los olfateos ano-genital y las aproximaciones de las 08:00 a 08:30 h en los días 0,1, 2 y 3 post-introducción de los machos con las hembras (Fernández *et al*., 2018). Una hembra en estro muestra inmovilidad y acepta la monta con intromisión del macho. La proporción de hembras en estro se comparó con una prueba exacta de Fisher entre los grupos de hembras. El comportamiento sexual de los machos se analizó con un modelo completamente al azar con medidas repetidas mediante ecuaciones de estimación generalizadas. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS versión 20.0 (IBM Corp. released 2011).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La proporción de estros durante los 15 días de exposición con los machos no difirió entre las hembras alojadas en grupo y las alojadas en corral individual (80% y 90%, respectivamente; P=1.0). En los días 0, 1, 2 y 3 post-introducción de los machos con las hembras, se observó que los machos desplegaron más aproximaciones y olfateos anogenitales a las hembras alojadas en corral individual que a las hembras alojadas en

grupo (P<0.05). Los resultados muestran que tanto las hembras alojadas en grupo como las alojadas en corral individual mostraron alto nivel de actividad sexual al estar en contacto con los machos fotoestimulados por primera vez durante el anestro estacional. La actividad estral mostrada por las cabras sin experiencia sexual es similar a la reportada previamente por cabras anéstricas con experiencia sexual expuestas a machos fotoestimulados (Muñoz *et al*., 2016). En cambio, difieren de aquellos estudios que indican que las ovejas sin experiencia sexual muestran poca o nula actividad sexual durante el primer contacto con el carnero (Gelez *et al*., 2004). Estudios previos indican que la actividad sexual desplegada por el macho es crucial para inducir la actividad sexual en las hembras en anestro estacional mediante el efecto macho (Delgadillo *et al*., 2002; Muñoz *et al*., 2016).

CONCLUSIONES

Las hembras caprinas sin experiencia sexual en anestro estacional, alojadas en grupo o individualmente muestran comportamiento estral en contacto con machos foto-estimulados durante el efecto macho.

REFERENCIAS

Bronson, F. H. 1985. Mammalian Reproduction. An ecological perspective. Biol Reprod. 32: 1-26.

Delgadillo, J. A.; Canedo, G. A.; Chemineau, P.; Guillaume, D.; Malpaux, B. 1999. Evidence for an annual reproductive rhythm independent of food availability in male Creole goats in subtropical northern Mexico. Theriogenology. 52: 727-737.

Delgadillo, J. A.; Flores, J. A.; Véliz, F. G.; Hernández, H. F.; Duarte, G.; Vielma, J.; Poindron, P.; Chemineau, P.; Malpaux, B. 2002. Induction of sexual activity of lactating anovulatory female goats using male goats treated only with artificial long days. J Anim Sci. 80: 2780-2786.

Duarte, G.; Flores, J. A.; Malpaux, B.; Delgadillo, J. A. 2008. Reproductive seasonality in female goats adapted to a subtropical environment persists independently of food availability. Domest Anim Endocrinol. 35: 362–370.

Duarte, G.; Nava-Hernández, M. P.; Malpaux, B.; Delgadillo, J. A. 2010. Ovulatory activity of female goats adapted to the subtropics is responsive to photoperiod. Anim Reprod Sci. 120: 65-70

Fernández, I. G.; Flores, M. E.; Flores, J. A.; Hernández, H.; Vielma, J.; Fitz-Rodríguez, G.; Duarte, G. 2018. Absence of previous sexual experience did not modify the response of anoestrous goats to photo-stimulated bucks in spring. Ital J Anim Sci. 17: 306-311.

Gelez, H.; Archer, E.; Chesneau, D.; Lindsay, D.; Fabre-Nys, C. 2004. Role of experience in the neuroendocrine control of ewes´ sexual behavior. Horm Behav. 45:190–200.

Muñoz, A. L.; Bedos, M.; Aroña, R. M.; Flores, J. A.; Hernández, H.; Moussub, C.; Briefer, E.F.; Chemineau, P.; Keller, M.; Delgadillo, J. A. 2016. Efficiency of the male effect with photostimulated bucks does not depend on their familiarity with goats. Physiol Behav. 158: 137-142.

CAPÍTULO 8

COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE POLLOS DE ENGORDE ALIMENTADOS CON TRES NIVELES DE INCLUSIÓN DE HARINA DE HOJAS DE *Thitonia diversifolia*

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissão: 08/06/2022

Carlos Augusto Martínez Mamian
Universidad del Cauca, Facultad de Ciencias Agrarias
Popayán, Colombia
https://orcid.org/0000-0002-3734-083X

Sandra Lorena López Quintero
Fundación Universitaria de Popayán, Facultad de Ciencias Ambientales y Agrarias
Popayán, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-8499-1654

Ximena Andrea Ruiz Erazo
Fundación Universitaria de Popayán, Facultad de Ciencias Ambientales y Agrarias
Popayán, Colombia
https://orcid.org/0000-0003-0287-3588

RESUMEN: El elevado costo económico en la alimentación del modelo de avicultura colombiana, hace necesario la evaluación de materias primas no convencionales que contribuyan a la rentabilidad en pequeños y medianos productores. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de tres niveles de inclusión de harina de hojas de *Tithonia diversifolia* para la alimentación de pollos de engorde en etapa de finalización. Se utilizaron 72 pollos machos, raza COOB 500, con un peso promedio a los 30 días de 1950 g, utilizando un diseño experimental completamente al azar con un testigo alimentado con concentrado convencional (T0), y tres tratamientos con diferentes niveles de inclusión *de T. diversifolia*, T1, T2 y T3 con 17, 21 y 25% respectivamente, se utilizaron tres repeticiones por tratamiento y 6 pollos por repetición. Se registró el consumo de alimento, ganancia de peso y conversión alimenticia como parámetros productivos, durante un periodo de 15 días. Se presentaron diferencias estadísticas en la ganancia de peso y conversión alimenticia ($p<0.05$), encontrándose que el nivel de inclusión de 21% de harina de hojas de *T. diversifolia* manifestó los mejores parámetros productivos, con una ganancia de peso de 1222g y conversión alimenticia (CA) de 1,6. La inclusión del 21% de *T. diversifolia* es una buena alternativa de alimentación para pollos de engorde.

PALABRAS CLAVE: Botón de oro, alimentación alternativa, producción.

PRODUCTION PERFORMANCE OF BROILERS FED WITH THREE LEVELS OF INCLUSION OF *Thitonia diversifolia* LEAF MEAL

ABSTRACT: The high economic cost of feed in the Colombian aviculture model makes necessary the evaluation of non-conventional raw materials that contribute to the profitability of small and medium producers. The objective of this research was to evaluate the effect of three levels of inclusion of Tithonia diversifolia leaf meal for the feeding of broilers in the finishing stage. 72 male broilers, COOB 500 breed, with an average weight at 30 days of 1950 g, were used in a completely randomized experimental design with a control fed with conventional concentrate

(T0), and three treatments with different inclusion levels of *T. diversifolia*, T1, T2 and T3 with 17, 21 and 25% respectively, three replicates per treatment and 6 broilers per replicate were used. Feed consumption, weight gain and feed conversion were recorded as productive parameters during a period of 15 days. Statistical differences were found in weight gain and feed conversion ($p<0.05$), with the inclusion level of 21% *T. diversifolia* leaf meal showing the best productive parameters, with a weight gain of 1222g and feed conversion (FC) of 1.6. The inclusion of 21% is a good feeding alternative for broilers.
KEYWORDS: Botón de oro, alternative feed, production.

INTRODUCCIÓN

La proteína animal de mayor aceptación a nivel mundial es la que se produce en la cadena avícola por sus características nutricionales, y versatilidad gastronómica (FENAVI, 2018). En este contexto, existe una tendencia clara frente al aumento del consumo de carne de aves de corral en casi todos los países y regiones, los consumidores se motivan por el precio más bajo, la consistencia y disponibilidad, el mayor contenido proteico, un porcentaje bajo en grasa; y se prevé que el consumo aumentará a nivel mundial a 152 millones de toneladas y representará el 52% de la carne adicional consumida (OECD y FAO, 2021).

En Colombia la avicultura representa un renglón económico importante, ha registrado un crecimiento superior anual al 4,5% produciendo una gran cantidad de huevos y carne para abastecer la creciente demanda de mercado (FENAVI, 2018). La carne de pollo particularmente, presentó un consumo per cápita de 36,1 Kg/persona en el 2019, y empleó aproximadamente a 400.000 personas de manera directa e indirecta; además, tuvo una participación del 0,7% en el PIB Nacional, del 14,3% del PIB Agropecuario y del 36,5% del PIB Pecuario (MinAgricultura, 2020).

La FAO (2022) señala que los sistemas avícolas familiares, rurales y en pequeña escala siguen desempeñando una función esencial para la preservación de los medios de vida en los países en desarrollo, representan un importante apoyo a las mujeres que se dedican a la agricultura, y mientras haya pobreza rural, la producción de aves de corral en pequeña escala seguirá brindando oportunidades de generación de ingresos y de nutrición humana de calidad.

Las pequeñas producciones avícolas generalmente presentan poca tecnificación, un manejo inadecuado, altos costos de producción y buscan la mejor manera de subsistir en el campo (Solano, 2021). En este sentido, los altos costos de alimentación, basada en la dependencia de concentrados comerciales, representa aproximadamente el 70% de los costos de producción de pollos de engorde, y, por lo tanto, afecta la eficiencia de las explotaciones de pequeños y medianos avicultores (Perea et al., 2018); aspecto que propone la búsqueda constante de alternativas alimenticias que les permitan mejorar la rentabilidad de sus sistemas productivos (Campo et al., 2017).

La participación del departamento del Cauca en la cadena avícola nacional se caracteriza por pequeños sistemas de producción que fortalecen la economía familiar especialmente en los municipios que hacen parte de la meseta de Popayán (Carvajal et al, 2017); estos sistemas abastecen la demanda local que contribuyen a mejorar la calidad de vida y la seguridad alimentaria de las comunidades rurales de la región.

En la alimentación de pollos de engorde, se han identificado especies vegetales útiles que están subvaloradas y no son aprovechados adecuadamente (Carvajal et al., 2017), tal como, *Tithonia diversifolia*, conocida en la región como botón de oro, especie versátil que se adapta desde 0 hasta 2400 msnm, soporta diversas temperaturas ambientales, y condiciones adversas como la baja fertilidad de los suelos y pobre precipitación anual (Argüello et al, 2019; Gutiérrez et al., 2019), no obstante, el mayor potencial productivo de la especie se expresa en clima medio. *T. diversifolia* contiene niveles de proteína cruda del 25,07%, energía bruta de 4223+4,04 kcal GE/kg (Buragohain, 2016) y alta digestibilidad de la materia (Rodríguez et al, 2018). Adicionalmente, en las especies forrajeras presenta resultados significativos en producción de biomasa aérea, características que pueden potencializar su uso con el objeto de disminuir los costos de producción en la alimentación de pollos de engorde, y en general, para especies de interés zootécnico (Zabala, 2021).

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto de tres niveles de inclusión de follaje de *Tithonia diversifolia* (0%, 17%, 21% y 25% en base seca) en parámetros productivos de pollos de engorde para la etapa de finalización.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se realizó en la finca Bella Vista, vereda La Estación del municipio de Morales (Cauca, Colombia), localizada a 1.635 msnm., 2°45′37″ de latitud norte 76°38′02″ de longitud oeste, con temperaturas entre 23 - 28ºC y humedad relativa promedio del 80%.

Animales de estudio

Se utilizaron 72 pollos de engorde de 27 días de edad con plan de vacunación completo, de la línea COOB 500, alimentados con concentrado comercial y con un peso promedio de 1950±20 g. Los animales se sometieron a un periodo de acostumbramiento de 3 días antes de suministrar la dieta experimental y se mantuvieron 15 días en experimentación para una edad de sacrificio de 45 días.

El manejo de los animales se caracterizó por emplear una cama de aserrín, previas medidas de salubridad del galpón, desinfección y flameado de pisos y paredes, régimen de luz de 24 horas, temperatura bajo condiciones naturales de la zona, regulando el confort de los animales mediante el uso de cortinas, densidad de 11 pollos por m^2, alimentación en dos raciones (6:00 am y 1:00 pm) y suministro de agua a voluntad en comederos y bebederos plásticos convencionales.

Obtención de la harina de hojas de *T. diversifolia*

Las hojas se cosecharon de plantas en etapa de floración, sin manejo agronómico, mediante corte manual en época de bajas precipitaciones; posteriormente, se deshidrataron durante tres días en un secador parabólico y se molieron hasta obtener una harina con el 25% de materia seca, respecto al contenido de humedad inicial. La evaluación de la composición química de la harina de hoja, fue realizada por el laboratorio de nutrición de la Universidad de Nariño (tabla 1), en cuanto a los valores del contenido de Lisina y Metionina de *T. diversifolia* de 1,08% y 0,23% utilizados respectivamente, se obtienen de los estudios realizados por Grashorn (2017).

Parámetro	Harina de hoja *T. diversifolia*	Método de análisis en laboratorio
PC (%)	29,59	Volumétrico Kjeldahl
EM Mcal/kg	2,54	Calorimetría
Ca (%)	2,47	Espectrofotometría UV-VIS
P (%)	0,36	Espectrofotometría UV-VIS
FC (%)	6,49	Gravimétrico

Tabla 1. Bromatológico de harina de hoja de *T. diversifolia* en base seca

Fuente: análisis bromatológico de la harina de hojas de *T. diversifolia*, realizado en el laboratorio de la Universidad de Nariño (Pasto-Nariño). PC: proteína cruda; EM: energía metabolizable; Ca: calcio; P: fósforo; FC: fibra cruda.

Elaboración del concentrado

Para balancear las dietas iso-proteicas e iso-energéticas, se tuvieron en cuenta los requerimientos nutricionales de las tablas brasileñas para cerdos y aves de Rostagno et al. (2017), empleando maíz blanco, sorgo, harina de pescado, torta de soya, aceite vegetal, pre mezcla de vitaminas y minerales, sal marina, melaza, harina de hojas de *T. diversifolia*, carbonato de calcio, fosfato bicálcico, metionina y monoclorhidrato de lisina; el concentrado en forma de pellets se elaboró utilizando un método artesanal con molino.

Variables evaluadas

Consumo de alimento (C): se calculó mediante diferencia entre el peso del alimento ofrecido y el peso del alimento rechazado, empleando una balanza electrónica digital gramera (10kg/1g). La cantidad de alimento rechazado fue registrado antes de suministrar la ración, según los residuos encontrados en el comedero realizando el monitoreo dos veces al día.

Ganancia de peso (GP): resultado de la diferencia entre el peso final y el inicial (después de los 3 días de acostumbramiento), de cada uno de los animales por tratamiento. Se empleó una balanza mecánica tipo reloj de 100kg.

Conversión alimenticia (CA). Se calculó dividiendo el consumo de alimento de los 15 días de evaluación entre la ganancia de peso.

$$CA = C / GP$$

Diseño experimental y análisis estadístico

Se empleó un diseño experimental completamente al azar, donde el factor tratamiento está determinado por cuatro dietas para la alimentación en etapa de finalización, el control y tres niveles de inclusión de harina de hojas de *T. diversifolia*: 17%, 21 % y 25%, definidos como tratamientos TD0, TD17, TD21 y TD25 respectivamente, con tres repeticiones distribuidas al azar y seis animales por repetición. La información se tabuló en una matriz de Excel para cada variable evaluada. El análisis estadístico de la información se realizó en el software SPSS v 25, mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un margen de significancia del 5% ($p<0,05$) y prueba de promedios de Tukey para identificar el mejor tratamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza arrojó diferencias estadísticas ($p<0,05$) para las variables ganancia de peso y conversión alimenticia. Los resultados muestran que en las dietas elaboradas con los diferentes niveles de inclusión (17, 21 y 25%), no se afectó el consumo de alimento; resultados similares obtuvieron Buragohain y Kalita (2015), quienes evaluaron niveles de inclusión del 2, 4, 6 y 8% de botón de oro; a su vez, Molina (2020) señala que probablemente, el consumo no se afecte porque las aves poseen pocas papilas gustativas; por su parte, Valdivié *et al*., (2008), indica que no hay diferencias en palatabilidad y aceptación por parte de las aves, cuando las dietas se ofertan, en forma de harina.

Ganancia de peso

En la Figura 1 se puede observar que existieron diferencias significativas entre los tratamientos ($p<0,05$). En este sentido, la prueba de promedios de Tukey señala que el tratamiento con mejores resultados fue T2 (21%) con una ganancia de peso de 1222 gr, seguido del T3 (25%) con pesos de 1111 gr; mientras que, el testigo (T0) y T1 (17%) presentaron un comportamiento similar con la menor ganancia, y con pesos de 914 gr y 978 gr respectivamente. Los resultados con buen desempeño productivo (T2 y T3) se pueden atribuir a que la dieta con botón de oro, presentó un contenido adecuado de energía y proteína (Gutiérrez y Hurtado, 2019). González et al, (2014) señalan que el uso de plantas forrajeras en la dieta de diferentes especies animales es una de las opciones para la producción eficiente y rentable en sistemas agropecuarios; ante estos condicionantes, se buscan fuentes proteicas económicas, evaluando follajes de especies arbóreas que, por su potencialidad, pueden garantizar dietas nutricionalmente adecuadas para animales en

producción.

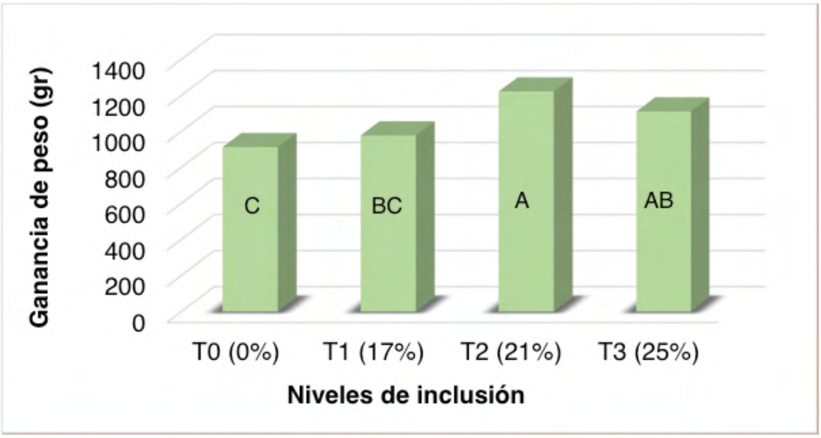


Figura 1. Ganancia de peso de pollos de engorde empleando diferentes niveles de inclusión de *T. diversifolia* en la dieta

Cabe anotar que la fibra encontrada en el follaje de botón de oro (6,49% tabla 1), no fue un limitante para el balance y digestibilidad de las dietas experimentales, y sumado al contenido de proteína en la harina de botón de oro (Rodríguez et al., 2018), resultaría factible encontrar efectos positivos con las mayores inclusiones evaluadas.

Es importante mencionar, que el nivel de proteína de harina de botón de oro con que se trabajó fue del 29,59% en promedio (tabla 1), resultado que podría aumentar la disponibilidad para el aprovechamiento de los pollos (Vega et al., 2019). En este sentido, Makinde & Egbekun (2016) y Mahmoud et al. (2017) con 22% de PB observaron mejor ganancia de peso, conversión alimenticia, digestibilidad de proteína bruta y rendimiento de la canal; por su parte, Guilcapi (2013) en la etapa de crecimiento con 20% de PB, logró mejores parámetros productivos en cuanto a ganancia de peso y conversión alimenticia y en la etapa de engorde con 18% de PB, consiguieron los mejores promedios productivos en peso final, ganancia de peso y conversión alimenticia.

Conversión alimenticia

Entre los tratamientos, se presentaron diferencias estadísticas para la conversión alimenticia ($p<0,05$). La prueba de promedios de Tukey mostró que el tratamiento con mejor conversión fue T2 (21%) con valor de 1,6, seguido de T3 (25%) con factor de conversión de 1,8 (Figura 2), mientras que, el control presentó el mayor factor con 2,2. Resultados similares obtuvo Connolly (2017) quien reporta conversión alimenticia de 2.12 con concentrado comercial y al incluir dietas no convencionales presenta valores de 1,64.

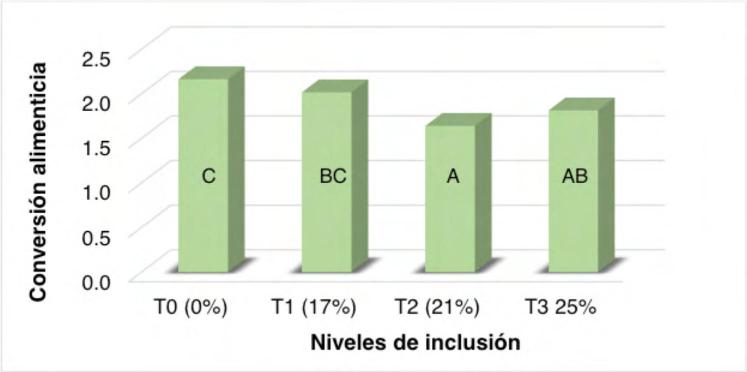


Figura 2. Conversión alimenticia de pollos de engorde alimentados con diferentes niveles de inclusión de *T. diversifolia*.

Fenavi (2020) reporta valores de conversión alimenticia de 1,73 con edad al sacrifico de 39 días, comparado a los resultados de la presente investigación, a excepción de T0, los valores son más eficientes utilizando diferentes niveles de inclusión de harina de botón de oro, que al presentar contenidos de proteína entre 20,37 y 23,37% (o 29% como en esta investigación), y carbohidratos solubles totales entre 9,65 y 12,92% (Londoño et al., 2019), se contempla como una excelente alternativa para la alimentación de pollos de engorde. Al respecto, Holguín et al, (2019) señala que, si bien la nutrición animal representa en promedio un 70% de los costos de producción, los buenos resultados en las producciones avícolas se equilibran con una buena genética del animal, manejo adecuado de enfermedades y el desarrollo de sistemas para brindar confort ambiental.

Savón et al.,(2017) por su parte, mencionan que la digestibilidad *in vitro* al utilizar botón de oro con altos niveles de proteína como en la presente evaluación (29%), oscila entre 75,28 y 78,59%, lo que lo convierte en una alternativa de forraje para manejo de materia prima no convencional en la alimentación de aves y que al utilizar un nivel inclusión del 21% de harina de hojas de botón de oro en la alimentación en etapa de finalización, la digestibilidad es alta y hay un buen aprovechamiento de nutrientes.

Análisis económico

En la tabla 2, se observa que los costos de producción para el manejo de los niveles de inclusión de harina de botón de oro son mayores con respecto al T0; sin embargo, es importante resaltar que los insumos utilizados para la elaboración del concentrado en los tratamientos T2 y T3, es más económico, probablemente, el uso de botón de oro, minimiza los costos.

Descripción	Tratamiento			
	T0	T1	T2	T3
M. obra	70.000	75.000	78.000	81.000
Insumos	273.464	274.994	272.197	270.718
Otros	3.375	3.375	3.375	3.375
Total	**346.839**	**353.368.5**	**353.571**	**355.093**

Tabla 2. Costos de producción de los diferentes tratamientos

El valor del gramo de pollo en el municipio de Morales tuvo un costo de $7, en este sentido, T2 fue el tratamiento que mayor ganancia de peso obtuvo (tabla 3), y generó mejores ingresos al momento de vender los pollos en canal, presentando una diferencia de aproximadamente $200 frente a los tratamientos T0 y T1.

Tratamiento	Peso g.	Valor gramo $	Valor Total $
T0	2.865	7	20.055
T1	2.911	7	20.377
T2	3.233	7	22.631
T3	3.050	7	21.350

Tabla 3. Costo en venta promedio de la carne de pollo.

En la tabla 4 se observa la diferencia entre costos totales, beneficio bruto y utilidad entre T2 y los tratamientos T0 y T1; se revelan mayores ganancias al utilizar el 21% de nivel de inclusión de harina de hoja de botón de oro en la dieta, y el promedio de peso de los pollos a los 45 días de edad fue mayor frente a los demás tratamientos y se encuentran diferencias económicas que conllevan a tener un mejor margen de rentabilidad del 15,2%, por lo cual se minimizan costos y mejoran las utilidades en una producción de manejo de pollos de engorde en etapa de finalización. La relación Beneficio-Costo (B/C) está presentada por la relación Ingresos-Egresos, en donde ambos deben ser calculados de acuerdo con el flujo de caja (Flórez et al., 2018).

Tratamiento	Costos totales $	Beneficio bruto $	Utilidad $
T0	346.839	360.990	14.151
T1	353.369	366.799	13.430
T2	353.571	407.399	53.828
T3	355.092	384.300	29.208

Tabla 4. Utilidad obtenida por tratamiento

CONCLUSIONES

El remplazo parcial de harina de hoja de botón de oro que se realizó destacó que a un 21% de nivel de inclusión, como materia prima no convencional, es una alternativa de alimentación. Por lo tanto, en sistemas de producción campesina, es factible elaborar dietas no convencionales para alimentación de pollos en fase de finalización.

La elaboración del concentrado con un nivel de inclusión de 21% de harina de hojas de botón de oro, disminuyen los costos en los insumos y genera mayores ingresos, comparada con los concentrados con 25%, 17% y 0% de inclusión de harina de hojas de botón de oro.

AGRADECIMIENTOS

Al grupo de investigación GINPAS del programa Administración de Empresas Agropecuarias de la Fundación Universitaria de Popayán por brindar el talento humano para el desarrollo del estudio. Al grupo de investigación NUTRIFACA de la universidad del Cauca por la contribución y experiencia en la interpretación y análisis de resultados.

REFERENCIAS

Argüello, J., Mahecha, L., & Angulo, J. (2020). Perfil nutricional y productivo de especies arbustivas en trópico bajo, Antioquia (Colombia). *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(3), 1-20. https://doi.org/10.21930/rcta.vol21_num3_art:1700.

Buragohain, R. (2016). Growth performance, nutrient utilization, and feed efficiency in broilers fed *Tithonia diversifolia* leaf meal as substitute of conventional feed ingredients in Mizoram. *Veterinary World*, 9(5): 444-449.

Buragohain, R., & Kalita, G. (2015). Effect of feeding *Tithonia Diversifolia* leaf meal (TDLM) on carcass graits and sensory characteristics of meat of commercial broilers in Mizoram. *International Journal of Livestock Research*, 5(9), 47-54. https://doi.org/10.5455/ijlr.20150922024406.

Campo, J., Paz, L., & López, F. (2017). Utilización de chontaduro (*Bactris gasipaes*) enriquecida con *Pleurotus ostreatus* en pollos. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(2), 84-92. http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(15)84-92.

Carvajal, J., Martínez, C., & Vivas, N. (2017). Evaluación de parámetros productivos y pigmentación en pollos alimentados con harina zapallo (*Cucurbita moschata*). *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 15(2), 93-100. http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(15)93-100

Connolly, D. (2017). Inclusión de harina de follaje y raíz de yuca (*Manihot esculenta* Crantz), en la alimentación de pollos de engorde y su efecto en el comportamiento productivo. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria Managua]. http://repositorio. una.edu.ni/3500/1/tnl02c752.pdf

FAO. (2022). Producción y productos avícolas. https://www.fao.org/poultry-production-products/production/es/

FENAVI. (2020). Boletín Fenaviquín. Programa de estudios económicos – Fenavi – Fonav, No 319, año 16.

FENAVI. (2018). Fenavi registra récord en producción de pollo y huevo en el 2018. https://fenavi.org/comunicados-de-prensa/el-sector-avicola-crecio-45-en-2018/

Flórez, D., & Arias, Y. (2018). Evaluación de dos niveles de inclusión de harina de morera (*Morus alba*) sobre los parámetros productivos de pollo de engorde. *Mundo FESC*, 8(16), 55-62.

Grashorn, M.A. (2017). Requerimientos nutricionales de los pollos de engorde con diferente capacidad de crecimiento. En 21st Symp. of Poultry Nutrition. Salou/Vila-seca, mayo 2017. https://seleccionesavicolas.com/pdf-files/2017/9/24-28-requerimientos-nutricionales-pollos-engorde-diferente-capaciad-crecimiento-SA201709.pdf

Guilcapi, P. R. (2013). Utilización de aminoácidos sintéticos con reducción de proteína bruta en la alimentación de pollos parrilleros. [Tesis de pregrado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].

Gutiérrez, L., & Hurtado, V. (2019). Use of *Tithonia diversifolia* foliage meal in broiler feed. *Orinoquia*, 23(2), 56-62. http://dx.doi.org/10.22579/20112629.569

Holguín, V., Ortiz, S., Díaz, G., & Mora, J. (2019). Estimation of leaf area of *Tithonia diversifolia* using allometric equations. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 22(2), 231-238.

Londoño, C., Mahecha, L., & Angulo, A. (2019). Desempeño agronómico y valor nutritivo de *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A Gray para la alimentación de bovinos. *Revista colombiana de ciencia animal recia*, 11(1), 28-41. https://doi.org/10.24188/recia.v0.n0.2019.693

Mahmoud, K., Obeidat, B., Al-Sadi, M. & Hatahet, S. (2017). Effect of Bacillus subtilis supplementation and dietary crude protein level on growth performance and intestinal morphological changes of meat type chicken. *Livestock Science*, 195, 99-104.

Makinde, O., & Egbekun, C. (2016). Determination of optimum dietary energy and protein levels for confined early-stage Fulani Ecotype chickens. *Livestock Research for Rural Development*, 28(9), 164.

Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural - Minagricultura. (2020). Dirección de Cadenas Pecuarias, Pesqueras y Acuícolas. Cadena Avícola. Segundo trimestre de 2020. https://sioc.minagricultura.gov.co/Avicola/Documentos/2020-06-30%20Cifras%20Sectoriales.pdf

Molina, M. (2020). Comparación de una dieta de pollo de engorde, utilizando promotor de crecimiento (Virginiamicina y Colistina) versus una alternativa a base de ácidos orgánicos y fitogénicos. [Tesis de pregrado, Universidad de San Carlos de Guatemala].

OECD/FAO (2021), *OCDEFAO Perspectivas Agrícolas 20212030*, OECD Publishing, Paris. https://doi.org/10.1787/47a9fa44-es.

Perea, C., Garces, Y., Muñoz, A., Hoyos, J., & Gómez, J. (2018). Valoración económica del uso de ensilaje de residuos piscícolas en la alimentación de *Oreochromis* spp. Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 16(1), 43-51. http://dx.doi.org/10.18684/bsaa.v16n1.623

Rodríguez, B., Savón, L., Vázquez, Y., Ruiz, T., Herrera, M. (2018). Evaluación de la harina de forraje de Tithonia diversifolia para la alimentación de gallinas ponedoras. Livestock Research for Rural Development, 30(56).

Rodríguez, B., Savón, L., Vázquez, Y., Ruíz, T., & Herrera, M. (2018). Evaluación de la harina de forraje de *Tithonia diversifolia* para la alimentación de gallinas ponedoras. 30(3). https://www.lrrd.cipav.org.co/lrrd30/3/brod30056.html?fbclid=IwAR0rqHuBY4f3_dCnG7f2zzOYqKN_yo_fjPziivzFgzBIOJgv5q8zmJoUYeY

Rostagno, Horacio; Teixeira Albino, Luiz Fernando; Hannas, Melissa Izabel; Lopes Donzele, Juarez; Sakomura, Nilva Kazue; Perazzo, Fernando Guilherme; Saraiva, Alysson; Teixeira de Abreu, Márvio Lobão; Borges Rodrigues, Paulo; Flávia de Oliveira, Rita; de Toledo Barreto, Sergio Luiz; de Oliveira Brito, Clauson. (2017). Tablas brasileñas para aves y cerdos. Composición de alimentos y requerimientos nutricionales. 4 ed. Universidad Federal de Viçosa, Departamento de Zootecnia. Brasil.

Savón, L., Mora, L., Dihigo, L., & Ruiz, T. (2017). Mulberry, moringa and tithonia in animal feed, and other uses. Results in Latin America and the Caribbean. Food and Angriculture Organization of the United Nations Instituto de Ciencia Animal, Cuba. https://www.feedipedia.org/sites/default/files/public/savonvaldes_2017.pdf#page=236

Solano, R. (2021). Caracterización del sistema de bioseguridad en las granjas avícolas, en el municipio de Chinácota, Norte de Santander, Colombia. *Ciencia y Agricultura*, 18(2), 1-10. https://www.redalyc.org/journal/5600/560068358001/560068358001.pdf

Valdivié, M., Leyva, C., Cobo, R., Ortiz, A., Dieppa, O., & Febles, M. (2008). Sustitución total del maíz por harina de yuca (*Manihot esculenta*) en las dietas para pollos de engorde. *Revista Cubana de Ciencia Agrícola*, 42(1), 61-64. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193015413010

Vega, E., Sanginés, L., Gómez, A., Hernández, A., Solano, L., Escalera, F., & Loya, J. (2019). Reemplazo de alfalfa con *Tithonia diversifolia* en corderos alimentados con ensilado de caña de azúcar y pulidura de arroz. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 10(2), 267-282. http://dx.doi.org/10.22319/rmcp.v10i2.4455

Zabala Laguna, Brayan. (2021). Botón de oro (*Tithonia diversifolia*) como alternativa sostenible en granjas de producción con especies de interés zootécnico en Colombia. [Tesis pregrado Zootecnista, Universidad Nacional Abierta y a Distancia – UNAD, Girardot, Colombia].

CAPÍTULO 9

EFFICIENCY EVALUATION OF DIFFERENT COAGULANT AGENTS ASSOCIATED WITH A DIRECT FILTRATION SYSTEM IN WATER TREATMENT

Data de aceite: 19/07/2022

Higor Aparecido Nunes de Oliveira
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus/PR
Environmental Engineering student

Edilaine Regina Pereira
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus /PR
Phd Environmental Engineering teacher

Mariana Fernandes Alves
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus /PR
Environmental Engineering student

Dandley Vizibelli
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus /PR
Master in Environmental Engineering

Fellipe Jhordã Ladeia Janz
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus
Master in Evironmental Engineering

Julio Cesar Angelo Borges
Federal Technological University of Paraná – Londrina campus /PR
Master student in Environmental Engineering

ABSTRACT: Developing studies for water treatment that seek to adapt and balance the preservation of the environment is fundamental for the present time, which is why studies with organic coagulants have become so important. Aluminum sulfate is widely used, but high concentrations can cause problems to human health. The tests for water treatment were carried out simulating the processes that occur in a water treatment plant, such as coagulation, flocculation, sedimentation, and filtration. The parameters pH, electrical conductivity, and turbidity were analyzed. The coagulants Tannin, Aluminum Sulfate, *Moringa Oleifera,* Ferric Chloride, Bufloc 5122 and, Bufloc 5122 accompanied by the auxiliary Bufloc 5158 were used. The results showed that the coagulant extracted from the seed of *Moringa oleifera* stood out after direct filtration, showing results similar to ferric chloride, both showing results higher than 99% of turbidity removal. For pH, the results showed no variation, as for conductivity, *Moringa oleifera* presented values above the average due to its saline composition. It is concluded, therefore, that there is a possibility that an organic coagulant presents efficiency equivalent to an inorganic coagulant in water treatment, bringing benefits to the environment as it is a less polluting component.
KEYWORDS: Coagulants, filtration, water treatment.

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DE DIFERENTES AGENTES COAGULANTES ASSOCIADO A SISTEMA DE FILTRAÇÃO DIRETA NO TRATAMENTO DE ÁGUA

RESUMO: Desenvolver estudos para tratamento de água que procurem adequar e equilibrar a preservação do meio ambiente é fundamental para os tempos atuais, por isso estudos com coagulantes orgânicos tornam-se tão importantes. O sulfato de alumínio é bastante

empregado, porém elevadas concentrações podem causar problemas à saúde humana. Os ensaios para tratamento de água foram realizados simulando os processos que ocorrem numa estação de tratamento de água, como a coagulação, floculação, sedimentação e filtração e foram analisados os parâmetros pH, condutividade elétrica e turbidez. Foram empregados os coagulantes Tanino, o Sulfato de Alumínio, a Moringa Oleifera, o Cloreto Férrico, o Bufloc 5122 e o Bufloc 5122 acompanhado do auxiliar Bufloc 5158. Os resultados mostraram que o coagulante extraído da semente de Moringa oleifera se destacou após a filtração direta, apresentando resultados semelhantes ao cloreto férrico, ambos apresentando resultados superiores a 99% de remoção de turbidez. Para o pH, os resultados não demonstraram variação e para a condutividade a Moringa oleifera apresentou valores acima da média devido sua composição salina. Conclui-se, portanto, que há possibilidade de um coagulante orgânico apresentar eficiência equivalente a um coagulante inorgânico no tratamento de água, trazendo benefícios ao meio ambiente por ser um componente menos poluente.
PALAVRAS-CHAVE: Coagulantes, filtração, tratamento de água.

1 I INTRODUCTION

Brazil has 12% of the world's availability of freshwater. Even so, 80% of Brazilian water resources are found in the Amazon region, where the smallest part of the population lives and the water demand is lower (AGÊNCIA NACIONAL DE ÁGUAS, 2018), such outcome is a consequence of the great social and regional inequality present in the region. country (MACHADO, 2003). Therefore, developing new technologies and research in the area of water treatment that seeks to facilitate access to treated water is essential for the development of a disease-free society with quality of life.

According to Seckler (2017), the water treatment process can be considered as a set of water manipulations in its most different presentations, so that it can be classified as suitable for public supply. The processes are divided into coagulation (the stage in which suspended particles are agglomerated with the aid of a coagulant); flocculation (agglutination of smaller flakes of dirt into larger flakes); decantation (deposition of flocs by gravitational action) and filtration (the stage in which impurities are retained in a filter).

For Libânio (2010) filtration consists of a process capable of correcting failures that occurred in coagulation, flocculation, and sedimentation, ergo, filtration is responsible for retaining the colloidal particles of the water, thus improving the treatment and guaranteeing the quality of the water treated.

Currently, the most used inorganic coagulant for water treatment is aluminum sulfate ($Al_2(SO_4)_3$), but high concentrations of aluminum in the environment can be a cause of problems to human health (ROSALINO, 2011). Therefore, the use of organic coagulants based on seeds and tree bark has been a viable solution, as they have low toxicity and greater sustainability (SANTOS, 2011).

With this in mind, this study aims to approach water treatment in the sustainable concept of using organic coagulants as a way of replacing or aiding the use of inorganic

coagulants in the process involved.

2 l MATERIAL AND METHODS

The tests were carried out at the UTFPR Water Resources Laboratory – Londrina campus. 12 L of synthetic water based on a kaolinite solution ($Al_2Si_2O_5(OH)_4$) were prepared to simulate turbidity levels close to 100 uT using the methodology of Mendes (1989). The research included six treatments using different coagulants, namely Tannin (T1), Aluminum Sulfate (T2), *Moringa Oleifera* (T3), Ferric Chloride (T4), Bufloc 5122 (T5), and Bufloc 5122 accompanied by auxiliary Bufloc 5158 (T6). A preliminary assay was carried out in which several concentrations of coagulants were randomly tested and it was defined that the most efficient concentration for T1, T2, and T4 was 6 mL L^{-1}, for T3 and T5 a concentration of 2 mL L^{-1} was used. 1 and 4 mL L^{-1} respectively. For the T6 treatment, the concentration of 3 mL L^{-1} was adopted.

To prepare the coagulant solutions, the following procedures were performed: for the coagulant extraction solution based on *Moringa Oleifera* seed, 10 g of the seed was crushed and diluted with 1 M NaCl in 1 L of distilled water. The solution was processed in a blender, and then the mixture was strained through a cloth sieve to remove the coarser organic matter, leaving only the coagulant liquid. Aluminum Sulfate, Ferric Chloride, and Bufloc 5122 coagulants were prepared by dissolving 1 g of the coagulant in 1 L of distilled water. Tannin and Bufloc 5158 were prepared by diluting 1 mL of each coagulant in 1 L of distilled water, and for Bufloc 5158 it was necessary to heat the water so that its complete dissolution was possible.

In the Jar-test equipment, the experiment was executed in duplicate and after adding the coagulants in their respective concentrations, the equipment was activated and the coagulation process was carried out for 3 minutes at 150 rpm, then reducing the rotation to 15 rpm. for 10 minutes in order to start the flocculation process, then turn off the device to characterize the sedimentation process (adapted from THEODORO (2012)).

For the construction of the filter, pre-tests were carried out where 3 filters were tested aiming to choose the best one for the development of this work and so the chosen filter was produced with sand with a granulometry from 0 to 0.425 mm (G1) in which it was filled 15 centimeters of the filter composing the top layer and a base layer of nonwoven geotextile.

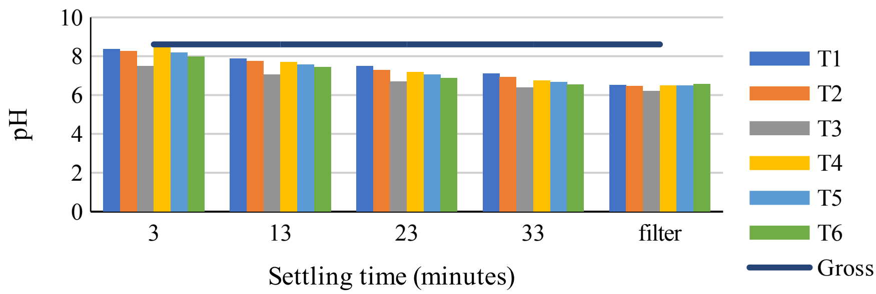
The analyzes during the sedimentation process were performed at an interval of 10 in 10 minutes, with the first collection being performed with 3 minutes of sedimentation and the last with 33 minutes. After collections, the pre-treated water from the jars was directed to the filters and after the passage of the water, the samples were collected for the last analysis.

The parameters analyzed were pH, electrical conductivity, and turbidity, all of which were analyzed by the methodology of APHA (2012).

3 | RESULTS AND DISCUSSION

Initially, the parameters observed for water in its raw state were pH 8.6; electrical conductivity 89.55 μS cm^{-1} and turbidity 107.5 uT, and Total Dissolved Solids 43 ppm.

Figure 1 shows the behavior of pH during the test.



Note: T1: tannin; T2: aluminum sulfate; T3: *Moringa oleifera*; T4: ferric chloride; T5: Bufloc 5122; T6: Bufloc 5122 and Bufloc 5158.

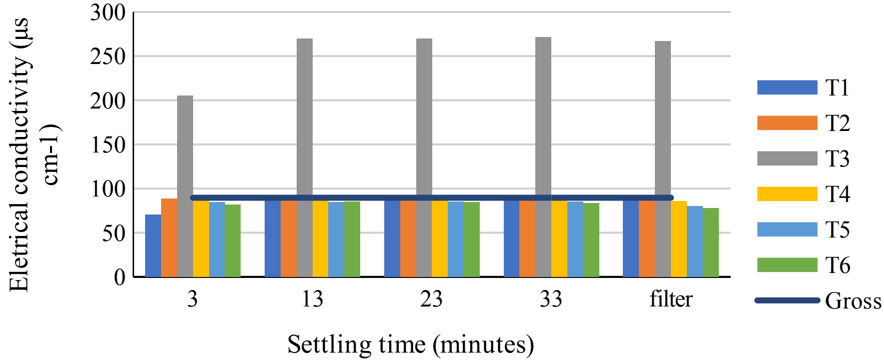
Figure 1 – Graph of pH behavior during the test.

Source: Own Authorship (2021).

When analyzing Figure 1, it is observed that the pH values fell as time progressed, remaining after filtration with values lower than the initial gross value of 8.6, a behavior corresponding to that presented by Borges and Pereira (2020) in their studies. Notably, of all treatments, treatment T3 had the lowest pH values, resulting in a pH value of 6.2 at the end of the test. It is worth mentioning that at the end of the experiment, during the passage through the filter medium, the T6 treatment showed the highest pH compared to the other treatments, showing values of 6.5. Despite this, the results showed that all treatments did not show great pH variation between them at the end of the test.

Figure 2 shows the values obtained from the variation of electrical conductivity during the experiment. Observing the results, it can be seen that the T3 treatment presented, taking into account the gross value of 89.55 μS cm^{-1}, high levels of electrical conductivity throughout the experiment, which was also observed by Borges and Pereira (2020).

It is noted that at 23 minutes the treatment reached its maximum peak when reaching values of 269.8 μS cm^{-1} and this uneven change to the other treatments is due to the fact that the coagulant based on *Moringa oleifera* seed extraction has the presence of NaCl in its composition, and once the salt releases Na^+ ions into the solution, there is a considerable increase in electrical conductivity, as also pointed out by the study by Vizibelli et al. (2019).

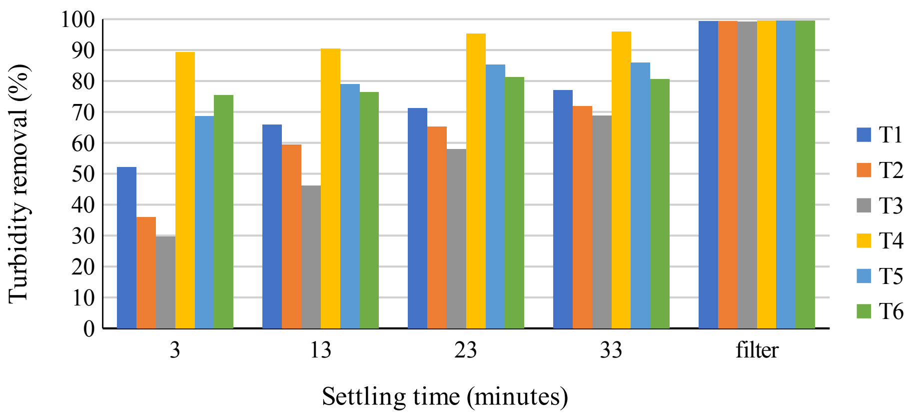


Note: T1: tannin; T2: aluminum sulfate; T3: *Moringa oleifera*; T4: ferric chloride; T5: Bufloc 5122; T6: Bufloc 5122 and Bufloc 5158.

Figure 2 – Graph of the electrical conductivity of values obtained during the test.

Source: Own Authorship (2021).

The electrical conductivity of the other treatments shown in Fig. 2 showed no significant differences in the gross water value, however, it is noticeable that in the T1 treatment there was an increase in the value obtained in the first analysis at 3 minutes of 70.3 μS cm^{-1}, with a value of 87 μS cm^{-1} at the end of filtration. Current Brazilian legislation does not present limit values for electrical conductivity. Figure 3 represents the turbidity removal efficiency results during the experiment.



Note: T1: tannin; T2: aluminum sulfate; T3: *Moringa oleifera*; T4: ferric chloride; T5: Bufloc 5122; T6: Bufloc 5122 and Bufloc 5158.

Figure 3 – Percentage of turbidity removal efficiency during the test.

Source: Own Authorship (2021).

As can be seen in Fig. 3, the T3 treatment showed low turbidity removal efficiency during the first and second collections and this was due to the large amount of organic matter from *Moringa oleifera*. The T3 treatment only obtained considerable result with time, at 43 minutes, and the same treatment showed an advance in the turbidity removal during the course of the sedimentation test, presenting values greater than 68%.

It is also observed that at the end of the passage of water through the filter medium, the turbidity removal efficiency of this same treatment presented values above 99%, thus emphasizing the filter's ability to retain the high amount of organic matter present in this organic coagulant.

Arantes et al. (2015) verified in their studies, using *Moringa oleifera* associated with slow filtration, removal of up to 95% for turbidity, corroborating these results.

The T4 treatment had a rapid effect, from the first 3 minutes, where it is possible to identify in Fig. 3 that the turbidity removal efficiency value reached the mark of 89%, and this value increased during the other collections. At 43 minutes, the T4 treatment reached 96% of turbidity removal, surpassing the other treatments. Higashi et al. (2016) point out in their study turbidity removal of up to 96%, using ferric chloride in water treatment.

Note that at the end of the test, all coagulants showed values greater than 99%, caused by the filter's ability to retain colloidal particles. Prado et al. (2007) observed in their studies using aluminum sulfate in water treatment turbidity removal efficiency higher than 80%. Demonstrating the possibility of using organic coagulants in water treatment, since they presented values equal to or more expressive than inorganic coagulants.

When the ANOVA analysis of variance, Table 1, is applied, it is observed that there is a significant variation in turbidity removal, both between treatments and over time, as both sources of variation have a P-value of less than 5% of significance, and F distribution value above the values delimiting the acceptance and rejection areas given by F critical.

Source of Variation	*SQ*	*gl*	*MQ*	*F*	*P value*	*F crit*
Time	5460,899	4	1365,225	17,87069	2,19822E-06	2,866081
Treatment	3876,208	5	775,2417	10,14786	5,93117E-05	2,71089
Error	1527,893	20	76,39463			
Total	10865	29				

Table 1. ANOVA analysis of variance to double factor without repetion.

Source: Own Authorship (2021).

Thus, the hypothesis that at least one of the sources of variation is statistically different from the others is validated. However, in order to determine the level of influence of the sources of variation, a greater volume of sample data would be necessary, a

recommendation for future work.

4 I CONCLUSIONS

After the filtration process, it was possible to observe that the organic coagulant extracted from the *Moringa oleifera* seed stood out together with the ferric chloride since both presented results above 99% of turbidity removal. It was also observed that associating the coagulant made from the extraction of the *Moringa oleifera* seed to the water treatment with filtration was essential for an increase to 99% of turbidity removal efficiency. It is also noted that the T5 treatment showed better values than T6, evidencing the no need for the Bufloc 5158 auxiliary in the treatment of the water in question.

The results for the pH parameter did not show great inequalities to the gross value, showing that there is no need for correction on the water treatment. The electrical conductivity values did not show a great difference from the gross value, except for the use of *Moringa oleifera* seed, which is due to its saline solution in its composition, showed values much higher than the others.

Therefore, it demonstrated the possibility of an organic coagulant presenting equivalent or associative efficiency to an inorganic coagulant in the treatment of water in a system with filtration, being able, in this way, to bring benefits to the environment for being a less polluting component and being able to present greater sustainability to the process.

ACKNOWLEDGMENT

This work was carried out with the support of the Federal Technological University Universidade of Paraná , Londrina campus.

REFERENCES

NATIONAL WATER AGENCY (Brazil). **Situation of water resources in Brazil 2018**: annual report/ National Water Agency (Brazil). Brasília: ANA, 2018, 72p. Avaliable from: < https://arquivos.ana.gov.br/portal/publicacao/Conjuntura2018.pdf> Accessed on October 12, 2021

APHA. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 22 ed. Washington, 2012 American Public Health Association. 1082p., 2012.

ARANTES, C. C.; PATERNIANI, J. E. S.; RODRIGUES, D. S.; HATORI, P. S.; PIRES, M. S. G. **Different forms of application of *Moringa oleifera* seeds in water treatment**. Brazilian Journal of Eng. Agric. Environmental, v.19, n.3, p.266–272, 2015.

BORGES, J. C. A.; PEREIRA, E. R. **Association of passion fruit peel extract and aluminum**

sulfate in water treatment. XXV Seminar on Scientific and Technological Initiation at UTFPR. Toledo, PR, 8p., nov. 2020. Avaliable from: <https://portaldeinformacao.utfpr.edu.br/Record/oai:ocs.200.19.73.15:paper-6129>. Accessed on July 5, 2021

HIGASHI, V. Y.; THEODORO, J. D. P.; PEREIRA, E. R.; SERGIO, P. T. **Use of chemical (ferric chloride) and organic (Moringa oleifera) coagulants in the treatment of water from a lentic system**. Scientific Technical Congress of Engineering and Agronomy. Foz do Iguaçu, PR, 5p., sept. 2016. Avaliable from :< https://tratamentodeagua.com.br/artigo/uso-de-coagulantes-quimico-cloreto-ferrico-e-organico-moringa-oleifera-no-tratamento-de-aguas-provenientes-de-sistema-lentico/>. Accessed on July 31, 2021.

LIBÂNIO, M. **Fundamentals of water quality and treatment**. 3rd ed. Campinas, SP: Átomo, 2010, 494p.

MACHADO, C. J. S. **Water resources and citizenship in Brazil: Limitations, alternatives and challenges**. In: Ambiente & Sociedade.V. 6. N. 2.16p., jul. /dec. 2003. Avaliable from: <https://www.scielo.br/j/asoc/a/TGsCpQ3L7Zd4FLzSM6WtXHk/?lang=pt&for mat=pdf>. Accessed on July 5, 2021.

MENDES, C. G. N. **Study of coagulation and flocculation of synthetic and natural waters with variable turbidity and color**. Doctoral Dissertation. São Carlos School of Engineering, University of São Paulo, São Carlos, São Paulo, 244 p., 1989.

PRADO, E. C. C. S.; TEIXEIRA, A.R.; POGGLIALI, C. A.; LIBÂNIO, M.; PÁADUA, V. L. **Evaluating coagulation applied to direct downflowing filtration**. Eng. Sanit. Ambient, vol.12 – n. 4, p. 361-370, oct./dec. 2007.

ROSALINO, M. R. R. **Potential Effects of the Presence of Aluminum in Water from Human consumption**. 2011. 85 f. Master Thesis in Environmental Engineering – Faculty of Science and Technology, University NOVA of Lisboa, Lisboa, 2011.

SANTOS, T. M.; PEREIRA, D. F.; SANTANA, C. R.; SILVA, G. F**. Physical-chemical study of water produced using Moringa oleifera Lam in comparison to aluminum sulphate**. Exacta, v.9, p.317-321, 2011.

SECKLER, S. **Water treatment: Conception, design and operation of treatment plants**. 1. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2017, 465p.

THEODORO, J.D.P. **Study of the coagulation and flocculation process followed membranes for obtaining drinking water**. 2012. 184f. Doctoral Dissertation (Department of Chemical Engineering) – Technology Center, State University of Maringá Maringá, 2012.

VIZIBELLI, D.; PEREIRA, E. R.; JANZ, F. J. L.; RIBEIRO, T.; BORGES, J. C. A. **Nonwoven geotextile as filter bed material in the pre treatment of water with organic coagulants**. Braz. J. of Develop. Curitiba, v. 5, n. 12, p. 31320-31331, dec, 2019.

CAPÍTULO 10

EL ANÁLISIS DE CORRELACIÓN XY EN LA ALIMENTACIÓN DE CERDOS Y SU EFECTO EN LA GANANCIA DE MASA MUSCULAR

Data de aceite: 19/07/2022

Ávila-Cisneros; R.
Profesor e Investigador del Dpto. de Ciencias Básicas de la UAAAN Unidad Laguna Torreón Coahuila México

González-Avalos; R.
Profesor e Investigador del Dpto. de Ciencias Básicas de la UAAAN Unidad Laguna Torreón Coahuila México

Castro-Aguilar; C.
Estudiante de la carrera de Médico Veterinario Zootecnista de la UAAAN U.L. y realizadora de trabajo de campo

Rocha-Quiñones; J.L.
Profesor e Investigador del Dpto. de Ciencias Básicas de la UAAAN Unidad Laguna Torreón Coahuila México

RESUMEN: El pasado 5 de marzo del 2021 y durante ocho semanas dio inicio este experimento en San Martin Caltenco, ubicada en el municipio de Tochtepec en el estado de Puebla que consistió en separar 5 cerdos destinados para engorda, cada uno en un corral diferente, e identificados, como C1, C2, C3, C4 Y C5, estos cerdos fueron alimentados con la línea Premium de Desarrollo y Poder Growpig!, con la finalidad de demostrar la hipótesis correlacional que dice: a mayor suministro del alimento comercial Poder Growpig! Y Desarrollo Growpig! en cerdos de engorda; mayor incremento de masa muscular durante su crecimiento. El procedimiento experimental de validación fue aplicar la regresión y correlación lineal simple y la ración de comida suministrada fue diferente para cada cerdo, puesto que solo varió en cada uno 100 gramos y al cabo de una semana a todos se les aumentaba 200 gramos, así hasta concluir el experimento y determinar en base a los parámetros del coeficiente de correlación que fue 0.99 que en sus valores de interpretación (r) $0.8 < r < 1$, indica que la correlación es muy alta y que efectivamente existe una correlación entre la cantidad de alimento suministrada de la marca comercial mencionada arriba y la ganancia de peso. La hipótesis planteada es aceptada por la correlación obtenida al final del proyecto.

ANTECEDENTES

La etapa de vida o de producción de los cerdos, se puede definir como un período de vida del animal donde necesita una determinada cantidad de nutrimentos para cumplir con sus funciones de mantenimiento y máxima producción. Además, tiene la capacidad según su desarrollo digestivo de utilizar los alimentos con diferentes grados de eficiencia. No solo tiene el efecto positivo de maximizar la utilización eficiente de nutrimentos y alimentos, sino también un efecto económico pues se evita un faltante o desperdicio de nutrimentos que afecta los rendimientos de los cerdos y como consecuencia la rentabilidad económica.

La alimentación eficiente de los cerdos es una de las prácticas más importantes, ya

que de ella dependen los rendimientos productivos de los cerdos, así como también la rentabilidad de una granja. La alimentación representa entre un 80 a un 85% de los costos totales de producción. Por esta razón es importante conocer ciertos conceptos importantes relacionados con la alimentación eficiente de los cerdos (Campabadal-Carlos; 2009). El cerdo posee un gran poder digestivo y de asimilación, por lo que, de acuerdo con el alimento suministrado, será su capacidad de aumento de peso y conversión alimenticia (Grepe, 2001; Roldán y Durán, 2006).

El crecimiento incluye uno o más de los tres procesos siguientes: multiplicación celular, ampliación celular e incorporación de material extraído del medio ambiente (Brody, 1945; citado por Gu et al., 1992). Hammond (1966) sistematizó los conocimientos sobre crecimiento y desarrollo, y definió al crecimiento como: “El aumento de peso vivo (PV) experimentado por un individuo desde su concepción hasta su estabilización en la edad adulta”; e indicó que durante el crecimiento ocurren dos fenómenos: 1) el crecimiento en sí, donde el animal va aumentando de peso, hasta alcanzar el tamaño adulto o madurez; y 2) el desarrollo, donde el animal modifica su conformación corporal, alcanzando la plenitud de sus funciones y facultades. La medida de crecimiento más usual en las distintas especies es la variación del peso corporal en el tiempo. Sin embargo, en el caso particular del cerdo, el proceso de crecimiento se juzga en términos de masa corporal de tejido magro y no a través de la masa total, debido a que los niveles de tejido adiposo en el cerdo maduro son variables y sumamente dependientes de la nutrición y del genotipo (Whittemore, 1996).

Diversos factores afectan los requerimientos de los cerdos para un nutriente específico. Los requerimientos están influenciados por una combinación del potencial de crecimiento y el consumo voluntario, los cuales requerirán cambiar la concentración del nutriente en la dieta y conocer los requerimientos de los cerdos en base a una cantidad por día. Algunos de estos factores son (Dritz et al., 1997):

- Medio ambiente (temperatura, humedad, instalaciones y competencia por el alimento).
- Raza, sexo y origen genético de los cerdos.
- Estatus de salud de la piara.
- Presencia de hongos, toxinas o inhibidores en la dieta.
- Disponibilidad y absorción de los nutrientes en la dieta.
- Variabilidad del contenido de nutrientes y disponibilidad en el alimento.
- Nivel de aditivos alimenticios o promotores de crecimiento.
- Concentración energética de la dieta.
- Nivel de alimentación como son la alimentación limitada contra la alimentación a libre acceso.

La producción de cerdos no sólo ha avanzado en la obtención de líneas genéticas más precoces, con mejores índices de conversión de alimento, sino también y hacia la obtención de cerdos con canales mucho más magras. Este avance ha sido motivado primeramente a la necesidad de incrementar los rendimientos obtenidos en el desposte de las canales, de manera de proporcionar una mayor cantidad de carne con la consecuente mejora en la rentabilidad, y a una mayor demanda de este tipo de carnes en base a exigencias relacionadas con la salud de los consumidores. Adicionalmente a la mejora genética, se han desarrollado aditivos no nutricionales, los cuales son capaces de inducir adicionales respuestas en la calidad de las canales, como por ejemplo el compuesto ractopamina (RAC), un agonista β-adrenérgico de la familia de las fenoletanolaminas, que actúa sobre los receptores β-adrenérgicos de las células adiposas y del músculo esquelético, promoviendo la lipólisis, con el consecuente incremento del magro en la canal (García-Torres et al, 2001; García-Rojas et al., 2007).

VENTAJAS DEL USO DE LA RACTOPAMINA

Mejora en el rendimiento en canal

Aumenta el peso del canal: 2 – 3 puntos porcentuales

Disminuye la grasa dorsal: 0.7 a 1 mm

Aumenta la profundidad del lomo: 0.8-1.2mm

GANANCIAS ADICIONALES CON EL USO DE LA RACTOPAMINA

Mayor volumen de carne producida. (Aumenta los Kg carne/cerdo:2.5 -3.5 Kg (1,2).

Menor uso de instalaciones.

Mejora la rentabilidad.

Chae et al. (1997), destacan el hecho de que el alimento en pellet es usado extensamente en producciones comerciales de cerdos. También se reporta en diversos estudios que las dietas en forma de pellet mejoran los promedios de ganancia diaria de peso, en comparación a dietas harinosas (Wondra et al., 1992, Aravena-Utreras; 2013) .

GROWPIG! PODER. Es un alimento para crecimiento de cerdos en presentación de pellet, que ayuda a consumirlo adecuadamente y aprovechar todos los nutrimentos que su formulación provee. Indicado parara cerdos durante las últimas 4 semanas de engorda (aproximadamente en un rango de peso entre 75y 100 kg.

Esta formulado y elaborado con proteínas de primera calidad, granos de cereales procesados, minerales, vitaminas y aditivos que proporcionan los nutrimentos esenciales; con alta biodisponibilidad para una rápida y eficiente finalización de los cerdos Dieta balanceada finalizadora con agradable sabor a frutas que ayuda a garantizar la óptima salida al mercado de cerdos en engorda.

Contiene Ractopamina, que ayuda a mejorar el desempeño productivo de los cerdos y el rendimiento y calidad del canal.

JUSTIFICACIÓN

La educación virtual provocada por la pandemia en el año 2020 también fue una ventana de oportunidad para lograr el trabajo práctico de cada uno de los estudiantes en sus lugares de origen. Mientras el facilitador aportaba con el apoyo de una pantalla los conocimientos de herramientas estadísticas que permitieran evaluar los diferentes tipos de hipótesis; los educandos en su comunidad ejidal tenían la oportunidad de hacerlo de manera práctica; éste es uno de los casos. Algunas veces inapropiadamente se utiliza el termino correlacionar; sin tener la herramienta estadística básica que se encarga de manera objetiva de lograr ese cometido. El trabajo de nutrición de cerdos que se desarrolló durante 8 semanas permitió aplicar y evaluar un alimento comercial Premium de Growpig!, con éste se varió la cantidad de alimento (variable independiente) y con esto ver sus efectos en la ganancia de peso de los cerdos (variable dependiente). El solo hecho de llevar a la práctica los conocimientos teóricos estadísticos que se han compartido de manera virtual genera una justificación hacia el presente trabajo

OBJETIVO

1.-Determinar la ganancia de peso obtenida a partir del suministro de alimento en diferentes cantidades

2.-Evaluar la correlación que existe entre el consumo de alimento de la línea Premium de Growpig! para cerdos de engorda y peso obtenido al finalizar el proyecto aplicando la regresión lineal simple y el coeficiente de correlación lineal.

HIPÓTESIS

A mayor suministro del alimento comercial Poder Growpig! Y Desarrollo Growpig! en cerdos de engorda, mayor incremento de masa muscular durante su crecimiento.

METODOLOGÍAS

El experimento se realizó en la comunidad de San Martin Caltenco, ubicada en el municipio de Tochtepec en el estado de Puebla La localidad se encuentra a una altura de 1980 metros sobre el nivel del mar. Con una duración de ocho semanas que va del día 05 de marzo y concluyo el día 30 de abril de 2021; se evaluó la ganancia de peso en cinco cerdos de engorda, previamente separados y con un lugar acondicionado para cada uno, variando la cantidad de alimento de engorda PODER GROWPIG suministrado al azar para

cada uno de los cinco cerdos, la cantidad suministrada a cada uno de los cerdos tenía una diferencia de 100 gramos, y cada semana a todos se le aumentaba a su ración 200g.

Durante las siguientes 7 semanas el suministro de alimento aumentaba para todos 200g por semana. En la semana 4 se les iba cambiando de manera gradual mezclando ambos alimentos esto con la intención de evitar alguna diarrea causada por el cambio brusco de alimento. El alimento siguiente fue PODER GROWPIG! de la misma línea. La cantidad total de alimento suministrada siguió siendo la misma

Para este experimento se ocuparon cinco cerdos, los cuales fueron separados cada uno en diferente corral debidamente acondicionado para su estancia, fueron alimentados con la línea DESARROLLO y PODER GROWPIG! de la marca MALTA CLEYTON, teniendo un libre acceso al agua.

Se les hacía medición de pesos los días viernes de cada semana, para esto se utilizó una báscula ganadera de la marca Braunker; los pesos tomados durante cada semana, el registro de porciones de alimento los capture en una bitácora de datos en el programa Excel y por ultimo para el análisis de datos se aplique la regresión lineal simple y el coeficiente de correlación.

Procedimiento del análisis de datos mediante regresión lineal según Rocha y Avila (2017):

Fórmula 1: Regresión lineal simple.

$$y = a + b(x)$$

Fórmula 2: Pendiente de regresión lineal

$$b = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{n\sum x^2 - (\sum x)^2}$$

Fórmula 3: Constante de regresión lineal.

$$a = \frac{\sum y}{n} - b(\frac{\sum x}{n})$$

Fórmula 4: Valor promedio de Y.

$$Yp = \frac{\sum y}{n}$$

Fórmula 5: Numerador de la fórmula del coeficiente r

$$\sum (Yc - Yp)^2 = \sum (y - Yp)^2 - \sum (y - Yc)^2$$

Fórmula 6. Fórmula del coeficiente de correlación r

$$r = \sqrt{\frac{\sum(Yc - Yp)^2}{\sum(y - Yp)^2}}$$

Donde:

Y= Variable dependiente.

X= Variable independiente.

b= Pendiente = Coeficiente de correlación lineal.

a= Constante de regresión lineal.

n= Número de datos en la tabulación.

Σ=Símbolo de sumatoria.

Yc = Valor calculado de Y

Yp = Valor de Promedio de Y.

RESULTADOS

Como se puede observar en tabla 1y tomando como referencia el cerdo 1; su peso inicial fue de 51.9 kilos y al final de la última semana de engorda su peso logrado alcanzó los 99.6 kilogramos; es decir un incremento por encima del 52%.

Cerdo	Semana 1		Semana 2		Semana 3		Semana 4		Semana 5		Semana 6		Semana 7		Semana 8	
	Con/ día (Kg)	P. (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)	Con/ día (Kg)	P (Kg)
C1	2	51.9	2.2	58.4	2.4	65	2.6	71.9	2.8	78.7	3	85.6	3.2	92.5	3.4	99.6
C2	1.9	52.3	2.1	58.7	2.3	65.3	2.5	72.1	2.7	78.9	2.9	85.7	3.1	92.5	3.3	99.6
C3	1.8	52.8	2	59.1	2.2	65.6	2.4	72.3	2.6	79	2.8	85.7	3	93.4	3.2	100
C4	2.2	52.9	2.4	59.6	2.6	66.4	2.8	73.4	3	80.4	3.2	87.5	3.4	94.6	3.6	102
C5	2.1	53	2.3	59.6	2.5	66.3	2.7	73.3	2.9	80.1	3.1	87.1	3.3	94.1	3.5	101.2

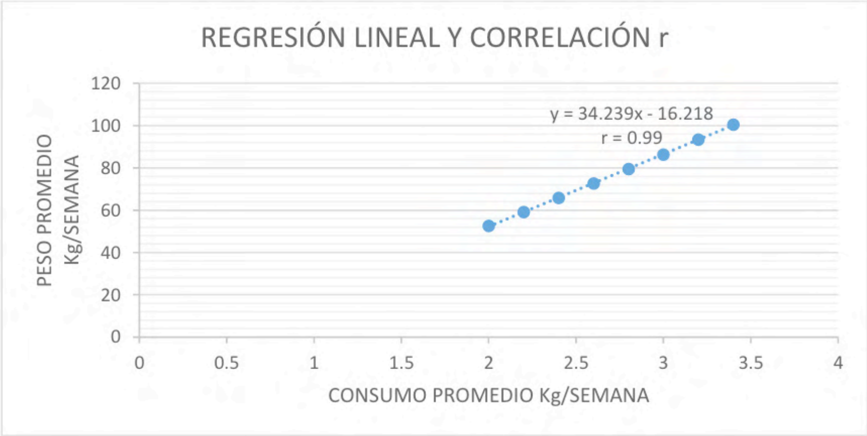
Tabla 1: Pesos obtenidos en Kg/semana y su Consumo/día en Kg.

En la tabla 2 se puede encontrar el consumo promedio de alimento en kilogramos de los 5 cerdos por un lapso de 8 semanas; así como su peso promedio ganado en el tiempo de referencia con las mismas unidades de medida.

No de Semanas	Consumo promedio/ semana en Kg (X)	Peso promedio ganado/ semana en Kg (Y)
1	2	52.6
2	2.2	59.12
3	2.4	65.78
4	2.6	72.62
5	2.8	79.44
6	3	86.34
7	3.2	93.43
8	3.4	100.48

En la gráfica 1 se puede observar el comportamiento lineal positivo entre la variable X y la variable Y. Además se puede apreciar la ecuación de regresión generada con su instrumento de validación r con un valor de 0.99; lo que nos indica una correlación muy buena entre el alimento suministrado y el peso ganado por los cerdos.

El resultado obtenido del coeficiente (r) entra dentro del rango 0.8< r <1, esto quiere decir que existe una correlación MUY ALTA entre el consumo de diario de alimento investigado y la ganancia de peso



Gráfica 1: Ecuación de regresión lineal y coeficiente de correlación obtenidos

Otro resultado que compara el éxito del experimento es lo que se puede apreciar en la tabla 3; tomando como referencia los pesos de la semana 1 y comparando con la semana número ocho; se ha logrado un incremento de peso por encima del 52%. Esto en términos de productividad es bastante bueno.

No de cerdo	Peso en Kg semana 1	Peso en Kg semana 8	% de incremento de peso
C1	51.92	99.6	52
C2	52.85	99.64	53
C3	52.91	100	53
C4	52.98	102	52
C5	52.60	101.2	52
		PROMEDIO =	52.5%

DISCUSIÓN

Estadísticamente la investigación fue un éxito; pues la correlación logrado es casi perfecta es decir; la linealidad lograda es perfectamente coincidente con los pesos iniciales que promediaron 52.6 kg y los finales con una media de 100.48 kg. Un peso ganado en promedio para los 5 cerdos de 47.88 Kg en los 2 meses del experimento es decir; en cada uno de los días los cerdos ganaron en promedio 800 gms.

Relacionado con la venta; estos se acomodaron en el mercado local de Puebla a $43.00/ Kg logrando un ingreso de $ 21 603.00 pesos; muy por encima de los $3000 pesos de Inversión que se erogaron en la compra de los lechones; que fue a razón de $600.00 pesos por lechón; mismos que se adquirieron al inicio del semestre Enero –Junio de 2021 pensando en el trabajo práctico que se evaluaría en la parte media del semestre.

CONCLUSION

El sistema de alimentación de los lechones y de los cerdos en desarrollo y engorde es un factor muy importante sobre los rendimientos productivos de los cerdos (Church y Pond; 1996). La línea de alimentos evaluada que fueron Desarrollo y Poder GROWPIG! De la marca comercial Malta Cleyton nos arrojaron en promedio una ganancia de peso de primera semana a octava semana por encima del 52%, en términos de kilogramos logrados son en promedio arriba de 49 kilogramos es decir; una ganancia de más de 6 kilos por semana. Por lo que la hipótesis planteada se acepta, ya que existe una correlación MUY ALTA entre el consumo de diario de alimento en (kg) y la ganancia de peso en (kg).

REFERENCIAS

Aravena-Utreras; Ch.A. (2013). Estudio de caso: Implementación de un sistema de alimentación líquida en engorda de cerdos. Tesis de licenciatura. Universidad Austral de Chile. Valparaíso, Ch.

Brody; L.C. 1945. Ciclo celular. National Human Genome Research Instutute. https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Ciclo-celular

Campabadal-Carlos; PhD. (2009). Guía técnica para alimentación de cerdos. Costa Rica. Imprenta Nacional.pp 7-4.

Chae, B.J., Han, K., Kim, J.H., Yang, C.J., Ohh, S.J., Rhee, Y.C. (1997). Effects of Feed Processing and Feeding Methods on Growth and Carcass Traits for Growing-Finishing Pigs. College of Agriculture & Life Sciences, Seoul National University. Corea. Publicado por Asian-Australian Journal of Animal Sciences. Volumen 10. pp: 164-169.

Church, C., Pond, V. (1996). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. 5ª ed. México DF. México edit. Limusa. pp. 89-95

Dritz S.S., M.D. Tokach, R.D. Goodband, y J.L. Nelssen. (1997). General Nutrition Principles for Swine,MF2298. Una serie de seis. Kansas State University.

Durán; F. y Roldán;J.C. (2006). Volvamos al campo: Manual de explotación y reproducción en porcinos. Grupo Latino LTDA. México D.F.

García-Rojas; P., Antaramián; A.A., Shimada-Miyasaky; A., Villanueva-Gamboa; F., y Mora-Izaguirre; O. (2007). Papel del coactivador PGC-1α en el balance energético: Importancia en la producción de bovinos de engorda. Archivo Latinoamericano de producción animal. UNAM. México; D.F. en: www.alfa.org.ve/ojs.index/php

García-Torres; D., Castellanos-González; M., Cedeña-Morales; R., Benet-Rodríguez; M., Ramírez – Arteaga; I. (2011). Tejido adiposo como glándulaendocrina. Implicaciones fisiopatológicas. Revista Finlay. Disponible en: http://www.revfinlay.sld.cu/Index.

Grepe, N. (2001). Crianza de porcinos. Ed. Iberoamericana S.A. de C.V. México, D.F.

Gu, Y., Schinckel, A. P; Martin, T. G. (1992). Growth, development and carcass composition in five genotypes of swine. J. Anim. Sci., 70: 1719-1729.

Hammond, J. (1966). En Principios de la explotación animal. Ed: Acribia, Zaragoza. España. Capitulo v: cerdos, pp. 172-198.

Rocha Valdez J.L y Avila Cisneros R (2017). Bioestadística aplicada a la medicina veterinaria e investigación pecuaria. Editorial Académica española. Primera edición. Saarbrucken Alemania.

Wandra;K.J., Hancock; J.D., Behnke; K.C. (1995). Effect of particle size and pelleting on growth performance, nutriet digestibility, and stomach morpohhology in finishing pig. J Anim Sci. 1995 Mar;73(3):757-63. doi: 10.2527/1995.733757x.

Whitttemore, C. T. (1996). Cambios en el crecimiento y en la composición corporal de los cerdos. Ciencia y práctica de la producción porcina. Acribia S.A. Zaragoza, España. pp. 49-81.

CAPÍTULO 11

ESTUDIO GENÓMICO COMPARATIVO DE CEPAS ATENUADA Y VIRULENTA DE *Babesia bigemina*

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissão: 06/07/2022

Julio Vicente Figueroa Millán
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Bernardo Sachman Ruiz
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Luis Lozano Aguirre
Centro de Ciencias Genómicas, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, México

José Juan Lira Amaya
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Rebeca Montserrat Santamaría Espinosa
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Grecia Martínez García
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Jesús Antonio Álvarez Martínez
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

Carmen Rojas Martínez
Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Salud Animal e Inocuidad, INIFAP. Jiutepec, Morelos, México

RESUMEN: En este estudio se comparó el viruloma de una cepa atenuada de *Babesia bigemina*, la cual se ha mantenido bajo condiciones de cultivo in vitro durante varios años en el laboratorio, con reducida virulencia para el hospedero bovino, e incapacidad de ser transmitida por la garrapata vector, con el viruloma de una cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida en México por garrapatas *Rhipicephalus microplus* a bovinos. Se realizó un mapeo de genes de virulencia contra un genoma de referencia: Cepa Bond de Australia. El análisis de los resultados preliminares obtenidos con la herramienta de búsqueda de alineación local básica (BLAST) demostró que de 27 genes de virulencia descritos para *Babesia spp.* e identificados en la cepa mexicana virulenta de *B. bigemina* transmitida por la garrapata, solo cinco fueron completamente identificados en la cepa atenuada de laboratorio. En todos los casos, los porcentajes de cobertura e identidad de los genes identificados en la cepa virulenta de *B. bigemina* fueron más altos que los identificados en la cepa atenuada de laboratorio. Este hallazgo está supuestamente asociado con la pérdida parcial continua de genes de virulencia en la cepa de laboratorio después de múltiples pasajes de la población de parásitos bajo condiciones óptimas de cultivo in vitro. La pérdida de algunos de los factores de virulencia podría reflejarse en la ausencia de síntomas de la enfermedad en

ganado inoculado con la cepa atenuada, a pesar de la presencia de infección en los eritrocitos del hospedero bovino. Esto, tendrá que ser corroborado por el análisis transcripcional en futuros estudios de investigación. El análisis del repertorio de genes expresados diferencialmente en la cepa atenuada de *B. bigemina* y estudios del transcriptoma están en curso para determinar si se mantiene la expresión génica diferencial o si varía con respecto a la cepa virulenta.
PALABRAS CLAVE: *Babesia bigemina*; cepa virulenta; cepa atenuada; genes de virulencia.

COMPARATIVE GENOMIC STUDY OF ATTENUATED AND VIRULENT STRAINS OF *Babesia bigemina*

ABSTRACT: In this study, the viruloma of an attenuated strain of *Babesia bigemina*, which has been maintained under in vitro culture conditions for several years in the laboratory, with reduced virulence for the bovine host, and inability to be transmitted by the tick vector, was compared with the viruloma of a virulent strain of *B. bigemina* transmitted in Mexico by *Rhipicephalus microplus* ticks to cattle. Virulence gene`s mapping was performed against a reference genome: *B. bigemina* Bond strain from Australia. Analysis of preliminary results obtained with the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) showed that out of 27 virulence genes described for *Babesia* spp. and identified in the virulent Mexican tick-borne strain of *B. bigemina*, only five were fully identified in the laboratory attenuated strain. In all cases, the percentages of coverage and identity of the genes identified in the virulent strain of *B. bigemina* were higher than those identified in the laboratory attenuated strain. This finding is putatively associated with continued partial loss of virulence genes in the laboratory strain after multiple passages of the parasite population under optimal in vitro culture conditions. The loss of some of the virulence factors could be reflected in the absence of symptoms of the disease in cattle inoculated with the attenuated strain, despite the presence of infection in the erythrocytes of the bovine host. This will have to be corroborated by transcriptional analysis in future research studies. Analysis of the differentially expressed gene repertoire in the attenuated strain of *B. bigemina* and transcriptome studies are ongoing to determine whether differential gene expression is maintained or varies from the virulent strain.
KEYWORDS: *Babesia bigemina*; virulent strain; attenuated strain; virulence genes.

1 I INTRODUCCIÓN

La babesiosis del ganado es una enfermedad transmitida por garrapatas de elevada importancia socioeconómica, la cual es causada por protozoarios Apicomplexa del género *Babesia* considerados como parásitos intraeritrocíticos obligados (Bock et al., 2004). En México, la babesiosis bovina es causada por *Babesia bigemina* y *Babesia bovis*. La enfermedad se distribuye en zonas tropicales y es transmitida por garrapatas *Rhipicephalus microplus* y *R. annulatus* (Rojas et al., 2018). La presentación de la babesiosis bovina causada por *Babesia bigemina* (*B. bigemina*) es 12-16 días después de que las garrapatas se alimentan del bovino, coincidente con la presencia del parásito intraeritrocítico en sangre periférica. La temperatura se eleva paralelamente al incremento en parasitemia hasta 41-42°C en 2 o 3 días. Los animales infectados están tristes, anoréxicos y con pelo hirsuto. Se

presenta hemoglobinemia y hemoglobinuria seguida por palidez de las mucosas junto con otros signos que pueden incluir constipación, deshidratación, temblor muscular, debilidad, postración y, si no se instaura el tratamiento adecuado, la muerte (Dalgliesh et al., 1981).

Se han generado diversos estudios sobre el bovino hospedero, el agente y sus relaciones tratando de reconocer sus características biológicas, así como su distribución, con el objeto de establecer programas de prevención y/o control de la enfermedad. Estas actividades han requerido la replicación del ciclo biológico logrado mediante el crecimiento artificial de estos parásitos en condiciones in vitro (Levy y Ristic, 1980; Vega, et al., 1985). Se han reportado diversos métodos para disminuir la virulencia de las especies patógenas en bovinos: Pases rápidos por inoculación parenteral en becerros esplenectomizados (Callow et al., 1979), pases lentos por inoculación parenteral en becerros intactos (Dalgliesh et al., 1981), y la metodología de cultivo in vitro para las especies de *Babesia* que afectan a los bovinos (Levy y Ristic, 1980; Figueroa et al., 1984; Vega et al., 1985; Fish et al., 2008). La atenuación de patógenos intracelulares por cultivo in vitro es un fenómeno bien conocido y patógenos como *B. bovis* y *B. bigemina* se han tornado avirulentos o menos patógenos mediante prolongado crecimiento en cultivo celular (Yunker et al., 1987; Kuttler et al., 1988; Schuster, 2002). Trabajos de nuestro grupo de investigación han permitido demostrar que una cepa de *B. bigemina* mantenida por pases continuos en cultivo in vitro, se ha comportado como población atenuada al no afectar en forma importante los valores hematológicos en animales inoculados (Hernández et al., 1990; Figueroa et al, 1998). La cepa atenuada de *B. bigemina* ha inducido protección al desafío heterólogo con sangre infectada o con garrapatas infectadas bajo condiciones controladas y de campo (Hernández et al. 1990; Figueroa et al, 1998; Álvarez et al, 2004). Las cepas vacunales han sido desarrolladas para conferir una adecuada protección sin ser transmitidas por garrapatas, un rasgo considerado ecológicamente deseable ya que previene la aparición de casos clínicos debido a la transmisión de la cepa vacunal por garrapatas (Mangold et al., 1993). Esta capacidad ha sido demostrada después de un pase en ganado susceptible (Dalgliesh et al., 1983; O'Sullivan y Callow, 1966; Hernández et al., 1990; Timms et al, 1990; Mangold et al., 1993). Además, este tipo de vacunas vivas atenuadas tiene la gran ventaja conferida por su producción in vitro: un bajo riesgo de contaminación con otros agentes infecciosos (Pipano, 1995; Rojas et al, 2018a; 2018b); una suspensión de glóbulos rojos altamente parasitada, y la posibilidad de producción de la vacuna en relativamente gran escala (Timms y Stewart, 1989). Se demostró que la cepa mexicana de *Babesia bigemina* atenuada no fue transmitida por garrapatas después de varios pases en bovinos susceptibles. Se demostró ausencia de reversión a la virulencia de esta cepa después de tres pases sucesivos en bovinos susceptibles y se confirmó que los parásitos mantenidos en cultivo in vitro perdieron la capacidad para multiplicarse en la garrapata vector durante un segundo pase por sub-inoculación en bovinos susceptibles (Rojas et al, 2011). En este estudio se confirmó que los parásitos mantenidos en cultivo in vitro perdieron la capacidad

para multiplicarse en la garrapata vector durante un segundo pase por sub-inoculación en bovinos susceptibles. Esto, evidenciado por la ausencia de quinetos en la hemolinfa de garrapatas alimentadas en bovinos con parasitemia patente. Además, se demuestra que aun cuando es sujeta a tres pases sucesivos en bovinos altamente susceptibles, la población de parásitos mantiene su característica biológica de reducida virulencia manifestada por los valores clínicos determinados en los bovinos sub-inoculados, los cuales no mostraron cambios relevantes.

Por otro lado, se desconocen hasta el momento los componentes del parasito responsables de la inducción de la hemolisis y otros efectos fisiopatológicos en los bovinos infectados. Resulta evidente que se requiere de estudios adicionales e investigación de frontera con metodologías de nueva generación para determinar los mecanismos involucrados en la determinación de virulencia para el desarrollo del parásito dentro del eritrocito infectado (y provocar la enfermedad en un bovino inoculado), así como para el desarrollo de estadios de *Babesia* subsecuentes y necesarios para la infección del intestino de *Rh. microplus* (formas sexuales) que permiten al parasito adquirir nuevamente la capacidad infectiva hacia la garrapata vector y, consecuentemente, ser transmitidos de forma trans-ovárica. Solo a través de la utilización de innovadores métodos de secuenciación masiva y el análisis del genoma y del transcriptoma, se podrá probar la hipótesis que algunos cambios genéticos (rearreglos cromosomales, deleciones o inserciones génicas) han ocurrido en el genoma de la cepa atenuada sujeta de estudio y mantenida en cultivo in vitro, los cuales se ven reflejadas en un fenotipo atenuado y carente de la capacidad de ser transmitido por la garrapata vector *R. microplus*. El análisis comparativo del genoma de la cepa virulenta mexicana con el genoma de la cepa virulenta australiana denominada Bond y de otras cepas (Jackson et al, 2014), permitirá demostrar que los cambios observados con las cepas mexicanas no se derivan de polimorfismos en genoma asociados al origen geográfico de las cepas. La genómica comparativa permite identificar genes únicos de ciertas cepas patógenas los cuales pueden estar ausentes en las cepas apatógenas.

La patogenicidad de *Babesia* para el ganado bovino está determinada en parte por la interacción con el sistema inmunológico del huésped y la presencia de genes de virulencia del parásito. En este estudio, se comparó el viruloma de una cepa atenuada de *B. bigemina*, la cual se ha mantenido bajo condiciones de cultivo in vitro durante varios años en el laboratorio, con reducida virulencia para el hospedero bovino, e incapacidad de ser transmitida por la garrapata vector, con el viruloma de una cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida por garrapatas *Rhipicephalus microplus* a bovinos.

2 | MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Parásitos

La cepa atenuada de *B. bigemina* es una población de parásitos originalmente derivada de un aislado virulento de México recolectado de un caso clínico de babesiosis. La cepa se adaptó a un cultivo in vitro usando un sistema estacionario microaerófilo (Vega et al, 1985). Una vez establecida en cultivo in vitro se cultivó continuamente durante casi cinco años consecutivos en laboratorio con pases cada 72 o 96 hrs (al menos 500 subcultivos en cultivo). Posteriormente, el cultivo in vitro de la B. bigemina se realizó de forma discontinua y con un número indefinido de pasadas en cultivo; se cultivó por períodos cortos de tiempo (uno o dos meses), justo hasta obtener material suficiente para los experimentos que se realizaron durante el desarrollo de la vacuna viva atenuada (períodos 1991-1998 y 2001-2006) y se congeló inmediatamente en líquido nitrógeno hasta que se realizaron otros experimentos en el período 2011-2017 en los que se cultivó para los últimos experimentos (transmisibilidad de garrapatas) y validación de inmunogenicidad (Figueroa et al, 1998; Álvarez et al, 2004; Rojas-Martínez et al, 2018a;2018b; Rojas-Ramírez et al, 2011) hasta ahora, cuando se realizó la secuenciación. Más importante para tener en cuenta es que el material biológico atenuado no ha pasado a través de un hospedero bovino desde su aislamiento original a diferencia del aislado virulento (del que se seleccionó la cepa atenuada) y que se replica en animales siempre que se requiere. Morfológicamente, la cepa atenuada no ha cambiado; sigue infectando eritrocitos tanto in vivo como in vitro, pero no provoca enfermedad cuando se inocula en el ganado y se ha mantenido en forma alterna en cultivo continuo y crioconservación desde entonces (Figueroa et al, 1998; Álvarez et al, 2004; Rojas-Martínez et al, 2018a;2018b; Rojas-Ramírez et al, 2011). La cepa virulenta, originalmente aislado de un caso clínico de campo, se ha mantenido a través de pasajes de garrapatas en susceptibles animales y criopreservación en nitrógeno líquido (Vega et al, 1985; Figueroa et al, 1998; Rojas-Ramírez et al, 2011).

2.2 Extracción de ADN genómico

Se utilizaron eritrocitos bovinos infectados con las diferentes poblaciones de B. bigemina para llevar a cabo la extracción de ADN genómico por métodos convencionales (Strauss 2001; Genis et al, 2008). Se utilizaron entre 20 y 30 µg de ADN genómico para preparar las dos bibliotecas clonales requeridas para cada cepa.

2.3 Secuenciación del genoma de *B. bigemina*, cepas atenuada y virulenta

La secuenciación del genoma completo se realizó con la plataforma Illumina de secuenciación de próxima generación Mi-Seq (Illumina, San Diego, CA, EE. UU.) en el Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado en Cuernavaca, Morelos. Las lecturas de secuencias obtenidas con el sistema Illumina se

ensamblaron de novo utilizando el Programa SPAdes (versión 3.1.1, Laboratorio de Biología Algorítmica, Universidad Académica San Petersburgo, San Petersburgo, Rusia) (Bankevich et al, 2012). Los contigs generados se ordenaron con la herramienta MUmmer (Kurtz et al, 2004). El esfuerzo de secuenciación del genoma de *B. bigemina* permitió obtener una cobertura de 264 X y 89 X para la cepa atenuada y virulenta, respectivamente. La lista de genes seleccionados genes se basó inicialmente en la consideración de artículos anteriores sobre inmunología clásica y estudios del transcriptoma donde se menciona que son genes atribuidos a la virulencia o posibles factores de virulencia (Bastos et al, 2013; Eichenberger et al, 2018). El mapeo de secuencias de genes virulentos contra un genoma de referencia (genoma australiano de *B. bigemina*) se realizó con BLAST (Altschul, 1990). Esto permitió un primer análisis de la composición del genoma de cada cepa e identificó posibles cambios (deleciones o inserciones) o reordenamientos cromosómicos que ocurrieron en los genomas de las cepas virulentas y atenuadas de *B. bigemina*.

3 I RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La secuenciación del genoma y el análisis del ensamble mostraron que la cepa atenuada de *B. bigemina* contenía 9,180,241 pb, mientras que la cepa virulenta 11,852,459 pb, una diferencia de 22.54% (Cuadro 1). El esfuerzo de secuenciación obtuvo una cobertura de 264X y 89X para las cepas atenuada y virulenta, respectivamente. Las secuencias de genes de virulencia se obtuvieron a partir de una búsqueda BLAST y las diferencias entre las cepas fueron notables; mientras que la cepa virulenta de *B. bigemina* transmitida por la garrapata presentó 27 genes con un promedio de cobertura del 98.06%, la cepa atenuada sólo presentó cinco de esos genes, con 81.2% de cobertura (Cuadro 2). En todos los casos, los porcentajes de cobertura e identidad de los genes identificados en la cepa virulenta de *B. bigemina* fueron más altos que los identificados en la cepa atenuada de laboratorio (Cuadro 3). Este hallazgo virulencia en la cepa de laboratorio después de múltiples pasajes de la población de parásitos bajo condiciones óptimas de cultivo in vitro.

Las secuencias de los genes de virulencia se obtuvieron de una búsqueda de alineación local básica con la herramienta BLAST, y las diferencias entre las cepas fueron notables; mientras que la cepa virulenta presentó 27 genes con una cobertura promedio de 98.06%, la cepa atenuada solo presentó cinco de esos genes con 81.2% de cobertura (Cuadro 2). El tipo más común de genes identificados en ambas cepas fueron genes parciales putativos; 18 para el tipo virulento y tres para la cepa atenuada. El único gen hipotético identificado con la secuencia más corta observada y sin diferencias en las bases pertenece a la cepa virulenta (107 pb; Cuadro 2). El gen más grande (6117 pb) presente en la cepa virulenta mostró el mayor número de diferencias en bases (216 pb; Cuadro 2). Se hicieron intentos para predecir si esos genes se traducirían en proteínas. Para las predicciones de los genes eucariotas, generalmente se utiliza el programa Augustus, que predice el marco

de lectura abierta de las proteínas en las seis posibles formas. Desafortunadamente para nosotros, el ensamblaje del genoma se realizó con la secuencia de lecturas aún conteniendo demasiados contigs, lo que dificultó la realización de un adecuado análisis bioinformático. Esto se resolverá mediante la realización de genoma de alto rendimiento secuenciación en una plataforma de secuenciación de lecturas mas largas como la denominada "PacBio Single Molecule Real Time (English et al, 2012) o la tecnología de Oxford Nanopore, con el objeto de cerrar huecos o extender los extremos de los contigs obtenidos en el ensamblaje de Illumina.

Datos de Secuenciación \ Cepa	***B. bigemina* atenuada**	***B. bigemina* virulenta**
# Contigs	4,017	1,537
Longitud total genoma	9,272,266	11,852,459
Contenido GC (%)	52.3	50.74
Cobertura (X)	264	89
GenBank No. de acceso	PRJNA685856	PRJNA685857

Cuadro 1**.** Cepas de *Babesia bigemina* analizadas en el estudio.

Identificación de genes	**No. De Acceso**	**No. de Contig**	**% identidad**	**Valor E**
Cepa virulenta de *Babesia bigemina*				
calcium-dependent protein kinase 4	XM_012911530.1	contig00169	99.08	0
calmodulin-domain protein kinase 2	XM_012910710.1	contig00134	98.75	0
cAMP-dependent protein kinase	XM_012914446.1	contig00026	98.88	0
casein kinase I	XM_012913338.1	contig00174	98.62	0
cGMP dependent protein kinase	XM_012914849.1	contig00056	99.21	0
cyclin 4	XM_012914402.1	contig00018	98.62	0
diphosphate kinase family, putative	XM_012913759.1	contig00012	99.34	1E-166
dnaJ C terminal region domian	XM_012910446.1	contig00220	98.74	0
glycerol kinase	XM_012914443.1	contig00026	98.99	4E-160
glycogen synthase kinase-3 alpha	XM_012910925.1	contig00076	98.86	4E-141
Hypotetical gene	XM_012911455.1	contig00674	100	2E-54
merozoite surface glycoprotein	AF298630.1	contig00098	92.31	2E-106
mitogen-activated protein kinase	XM_012912499.1	contig00013	98.23	0
phosphatidylinositol 3-and 4-kinase	XM_012912148.1	contig00156	97.66	0
phosphatidylinositol 4 kinase	XM_012911128.1	contig00059	97.19	0
phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase	XM_012914497.1	contig00063	99.10	0
phosphatidylinositol-4-phosphate 5-kinase	XM_012910512.1	contig00138	96.47	0
Probable fructokinase	XM_012910446.1	contig00220	98.74	0
protein kinase domain	XM_012914171.1	contig00006	98.32	0

putative rhoptry protein	NC_027216.1	contig00167	96.66	0
RAP-1 related antigen	NC_027216.1	contig00003	97.46	0
related serine/threonine protein kinase	XM_012911485.1	contig00028	95.70	0
Ser/Thr protein kinase	XM_012910695.1	contig00064	96.96	0
serine/threonine kinase	XM_012914264.1	contig00171	98.78	0
serine/threonine kinase 1	XM_012914521.1	contig00041	98.23	0
transcription factor TFIIB	XM_012912762.1	contig00016	98.16	0
transcription initiation factor TFIIB	XM_012910684.1	contig00064	98.67	0
			98.06*	

**Cobertura promedio*

Cuadro 2. Genes de virulencia identificados en el genoma de la cepa virulenta de *B. bigemina*

Identificación de Genes				
cGMP dependent protein kinase	XM_012914849.1	contig00032	84.55	1E-15
calcium-dependent protein kinase 4	XM_012911530.1	contig00066	78.68	6E-32
phosphatidylinositol 4 kinase	XM_012911128.1	contig00009	80.52	2E-46
serine/threonine kinase	XM_012914264.1	contig00035	83.54	4E-24
transcription factor TFIIB	XM_012912762.1	contig00023	78.73	2E-41
			81.20*	

**Cobertura promedio*

Cuadro 3. Genes de virulencia identificados en el genoma de la cepa atenuada de *B. bigemina*

Además, considerando que las diferencias fenotípicas entre la cepa atenuada de cultivo y la cepa virulenta incluye la falta de transmisión por garrapatas de la cepa cultivada, se realizó un análisis comparativo de la codificación de genes específicos de quinetos para proteínas involucradas en el desarrollo de la etapa sexual, u otros genes requeridos para la transmisión de *Babesia* por garrapatas. Varios de los genes que están involucrados en el desarrollo del parásito en la garrapata vector están bien descritos en la literatura, tales como los genes de la familia hap2 y CCp (Cuadro 3) (Bastos et al, 2013; Alzan et al, 2016; Camacho-Nuez et al, 2017; Bohaliga et al, 2018; 2019). Se encontró que estos genes estaban bien conservados en ambos genomas analizados con una secuencia ligeramente superior identidad en la cepa atenuada. Curiosamente, los genes CCp2 y BBBOND fueron identificado en dos contigs diferentes y aparentemente faltaban algunos nucleótidos (406 pb y 61 pb, respectivamente). El gen CCp1 descrito en *B. bovis* (Alzan et al, 2016) aparentemente falta tanto en el genoma de *B. bigemina* de la cepa virulenta como de la atenuada (Cuadro 3). En cuanto al desarrollo genes descritos en el Cuadro 3 que parecían tener una homología similar sin importar si pertenecían al aislado avirulento o al virulento, estudios previos han demostrado que los miembros de la familia del gen CCp de *Babesia* se expresan diferencialmente a lo largo del ciclo de vida y los datos presentados en esos

estudios demostraron que los genes CCcp de *Babesia* se expresan predominantemente durante la replicación del parásito en la garrapata vector (Bastos et al, 2013; Alzan et al, 2016; Camacho-Nuez et al, 2017; Bohaliga et al, 2018; 2019). Si este es el caso de los genes CCp identificados en este estudio de genómica comparativa necesita más investigación y actualmente estamos preparando estudios apropiados in vivo y experimentos in vitro para probar eso por RT-PCR.

4 I CONCLUSIONES

La pérdida de algunos de los factores de virulencia podría reflejarse en la ausencia de síntomas de la enfermedad en ganado inoculado con la cepa atenuada, a pesar de la presencia de infección en los eritrocitos de un hospedero bovino. Esto, tendrá que ser corroborado por el análisis transcripcional en futuros estudios de investigación. Será interesante analizar el repertorio de genes expresados diferencialmente en la cepa atenuada de *B. bigemina* y estudios del transcriptoma están en curso para determinar si se mantiene la expresión génica diferencial o si varía con respecto a la cepa virulenta de *B. bigemina*.

AGRADECIMIENTOS Y FUENTE FINANCIERA

El apoyo técnico fue brindado por la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva y Bioinformática, Instituto de Biotecnología, UNAM. Trabajo parcialmente financiado por CONACYT, Proyecto CB2017-2018 No. A1-S-43508; e INIFAP, Proyecto SIGI No. 1672534936.

REFERENCIAS

Altschul, S.F.; Gish, W.; Miller, W.; Myers, E.W.; Lipman, D.J. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. J. Mol. Biol. 1990, 215, 403–410, doi:10.1016/S0022-2836(05)80360-2.

Alvarez, J.A.; Ramos, J.A.; Rojas, E.E.; Mosqueda, J.J.; Vega, C.A.; Olvera, A.; Figueroa, J.V.; Canto, G.J. (2004). Field challenge of cattle vaccinated with a combined *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* frozen immunogen. Ann. N. Y. Acad. Sci. 2004, 1026, 277-283.

Alzan, H.F.; Lau, A.O.T.; Knowles, D.P.; Herndon, D.R.; Ueti, M.W.; Scoles, G.A.; Kappmeyer, L.S.; Suarez, C.E. (2016). Expression of 6-Cys gene superfamily defines *Babesia bovis* sexual stage development within *Rhipicephalus microplus*. PLoS ONE. 11,e0163791.

Bankevich, A.; Nurk, S.; Antipov, D.; Gurevich, A.A.; Dvorkin, M.; Kulikov, A.S.; Lesin, V.M.; Nikolenko, S.I.; Pham, S.; Prjibelski, A.D.; et al. (2012). SPAdes: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J. Comput. Biol. 2012, 19, 455-477.

Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; Laughery, J.M.; Johnson, W.C.; Ueti, M.W.; Knowles, D.P. (2013). Differential expression of three members of the multidomain adhesion CCp family in *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Theileria equi*. PLoS ONE. 8, e67765.

Bock, R.; Jackson, J.; de vos, A.; Jorgensen, W. (2004). Babesiosis of cattle. Parasitol. 129: 247-269.

Bohaliga, G.A.R.; Johnson, W.C.; Taus, N.S.; Hussein, H.E.; Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; Scoles, G.A.; Ueti, M.W. (2019). Identification of proteins expressed by *Babesia bigemina* kinetes. Parasites Vectors. 12, 271.

Bohaliga, G.A.R.; Johnson, W.C.; Taus, N.S.; Hussein, H.E.; Bastos, R.G.; Suarez, C.E.; O'Connor, R.; Ueti, M.W. (2018). Identification of a putative methyltransferase gene of *Babesia bigemina* as a novel molecular biomarker uniquely expressed in parasite tick stages. Parasites Vectors. 11, 480.

Camacho-Nuez, M.; Hernández-Silva, D.J.; Castañeda-Ortiz, E.J.; Paredes-Martínez, M.E.; Rocha-Martínez, M.K.; Alvarez-Sánchez, M.E.; Mercado-Curiel, R.F.; Aguilar-Tipacamu, G.; Mosqueda, J. (2017). Hap2, a novel gene in *Babesia bigemina* is expressed in tick stages, and specific antibodies block zygote formation. Parasites Vectors. 10, 568.

Dalgliesh. R.J.; Callow, L.L.; Mellors, L.T.; McGregor, W. (1981). Development of a highly infective *Babesia bigemina* vaccine of reduced virulence. Aust. Vet. J. 57(1): 8-11.

Eichenberger, R.M.; Ramakrishnan, C.; Russo, G.; Deplazes, P.; Hehl, A.B. (2017). Genome-wide analysis of gene expression and protein secretion of *Babesia canis* during virulent infection identifies potential pathogenicity factors. Sci. Rep. 7, 3357.

English A.C., Richards S., Han Y., Wang M., Vee V., Qu J., Qin X., Muzny D.M., Reid J.G., Worley K.C., et al. (2012). Mind the gap: Upgrading genomes with Pacific Biosciences RS long-read sequencing technology. PLoS ONE. 7:e47768

Figueroa-Millán JV, Cantó-Alarcón, G.J.; Juárez-Flores, J.; Ruíz-López, F. (1984). Cultivo in vitro de *Babesia bovis*: establecimiento y condiciones óptimas de multiplicación. Téc. Pecu. Mex. 46: 46-52.

Figueroa-Millán, J.V.; Cantó-Alarcón, G.J.; Álvarez-Martínez J.A.; Loza-Galván, R.; Ramos-Aragón, J.A.; Vega y Murguía, C.A. (1998). Capacidad protectora en bovinos de una cepa de *Babesia bigemina* derivada del cultivo in vitro. Tec. Pecu. Mex. 36:95-107.

Fish L, Fish L., Leibovich B., Krigel Y., McElwain T., Shkap V. (2008). Vaccination of cattle against *B. bovis* infection with live attenuated parasites and non-viable immunogens. Vaccine. 265: G29-G33.

Genis, A.D.; Perez, J.; Mosqueda, J.J.; Alvarez, J.A.; Camacho, M.; Muñoz, M.D.L.; Rojas, C.; Figueroa, J.V. (2009). Using msa-2b as a molecular marker for genotyping Mexican isolates of *Babesia bovis*. Infect Genet. Evol. 9:1102-1107.

Hernández-Ortiz R., Álvarez-Martínez J.A., Buening G.M., Cantó-Alarcón G., Monroy-García M., Ramos-Aragón J.A., Vega y Murguía C.A. (1990). Diferencias en la virulencia y en la inducción de protección de aislamientos de *Babesia bigemina* derivados de cultivo in vitro. Tec. Pecu. Mex. 28: 51–61.

Jackson A.P., Otto T.D., Darby A., Ramaprasad A., Xia D., Echaide I.E., Farber M., Gahlot S., Gamble J., Gupta D., et al. (2014). The evolutionary dynamics of variant antigen genes in *Babesia* reveal a history of genomic innovation underlying host–parasite interaction. Nucleic Acids Res. 42: 7113–7131.

Kuttler K.L., Zaugg J.L., Yunker C.E. (1988). The pathogenicity and immunologic relationship of a virulent and a tissue-culture-adapted *Babesia bovis*. Vet. Parasitol. 27: 239–244.

Levy MG, Ristic, M. (1980). *Babesia bovis*: continuous cultivation in a microaerophilous stationary phase culture. Science. 207: 1218-1220.

Mangold A.J., Aguirre D.H., Cafrune M.M., de Echaide S.T., Guglielmone A.A. (1993). Evaluation of the infectivity of a vaccinal and a pathogenic *Babesia bovis* strain from Argentina to *Boophilus microplus*. Vet. Parasitol. 51: 143–148.

Kurtz, S.; Phillippy, A.; Delcher, A.L.; Smoot, M.; Shumway, M.; Antonescu, C.; Salzberg, S.L. (2004). Versatile and open software for comparing large genomes. Genome Biol. 5, R12.

O'Sullivan P.J., Callow L.L. (1966). Loss of infectivity of a vaccine strain of *Babesia argentina* for *Boophilus microplus*. Aust. Vet. J. 42: 252–254.

Pipano E. (1995). Live vaccines against hemoparasitic diseases in livestock. Vet. Parasitol. 57: 213–231.

Rojas-Martínez, C.; Rodriguez-Vivas, R.I.; Figueroa-Millán, J.V.; Bautista-Garfias, C.R.; Castaneda-Arriola, R.O.; Lira-Amaya, J.J.; Vargas-Uriostegui, P.; Ojeda-Carrasco, J.J.; Álvarez-Martínez, J.A. (2018a). Bovine babesiosis: Cattle protected in the field with a frozen vaccine containing *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* cultured in vitro with a serum-free medium. Parasitol. Intl. 67:190-195.

Rojas-Martínez, C.; Rodriguez-Vivas, R.I.; Figueroa-Millán, J.V.; Acosta-Viana, K.Y.; Gutierrez-Ruiz, E.J.; Bautista-Garfias, C.R.; Lira-Amaya, J.J.; Polanco-Martínez, D.J.; Álvarez-Martínez, J.A. (2018b). *Babesia bigemina*: Advances in continuous in vitro culture using serum free medium, supplemented with insulin, transferrin, selenite and putrescine. Parasitol. Intl. 67:294-301.

Rojas-Ramírez, E.E.; Mosqueda-Gualito, J.J.; Álvarez Martínez, J.A.; Hernandez-Ortiz, R.; Ramos-Aragón, J.A.; Rojas-Martínez, C.; Canto-Alarcón, G.J.; Vega y Murguía, C.A.; Figueroa-Millán, J.V. (2011). Transmissibility of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* attenuated strains by *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ticks. Rev. Mex. Cienc. Pecu. 2, 267-281.

Schuster F.L. (2002). Cultivation of *Babesia* and *Babesia*-like blood parasites: Agents of an emerging zoonotic disease. Clin. Microbiol. Rev. 15: 365–373.

Stewart N.P. (1978). Differences in the life cycles between a vaccine strain and an unmodified strain of *Babesia bovis* (Babes, 1889) in the tick *Boophilus microplus* (Canestrini) J. Protozool. 25: 497–501.

Strauss, W.M. (2001). Preparation of genomic DNA from mammalian tissue. In Current Protocols in Mol Biol; Ausubel, F.M., Ed.; Jhon Wiley & Sons: West Sussex, UK; Volume 42, Chapter 2: Unit 2.2.

Timms P., Stewart N.P. (1989). Growth of *Babesia bovis* parasites in stationery and suspension cultures and their use in experimental vaccination of cattle. Res. Vet. Sci. 47: 309–314.

Timms P., Stewart N.P., de Vos A.J. (1990). Study of virulence and vector transmission of *Babesia bovis* by use of cloned parasite lines. Infect. Immun. 58: 2171–2176.

Vega, C.A.; Buening, G.M.; Green, T.J.; Carson, C.A. (1985). In vitro cultivation of *Babesia bigemina*. Am. J. Vet. Res. 46: 416-420.

Yunker C.E., Kuttler K.L., Johnson L.W. (1987). Attenuation of *Babesia bovis* by in vitro cultivation. Vet. Parasitol. 24: 7–13.

CAPÍTULO 12

EVALUACIÓN DEL COMPORTAMIENTO REPRODUCTIVO Y DETERMINACIÓN DE LA EDAD A LA PUBERTAD DE MACHOS Y HEMBRAS DE YAQUE (*Leiarius marmoratus*) BAJO CONDICIONES DE CAUTIVERIO

Data de aceite: 19/07/2022

Eduardo Castillo-Losada
Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0002-2503-2645

Nubia Estella Cruz-Casallas
Grupo de Investigación Trabajo de Llano, Corporación Universitaria Minuto de Dios - UNIMINUTO, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0002-0979-5095

Tatiana María Mira-López
Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0002-2278-7997

Juan Antonio Ramírez-Merlano
Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0001-9712-6678

Víctor Mauricio Medina-Robles
Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0002-4871-2715

Pablo Emilio Cruz-Casallas
Grupo de Investigación sobre Reproducción y Toxicología de Organismos Acuáticos – GRITOX, Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL, Villavicencio, Meta, Colombia
ORCID: 0000-0003-4641-1692

RESUMEN: Doscientos cincuenta yaques (*Leiarius marmoratus*) de 14 meses de edad fueron distribuidos en cinco estaciones piscícolas del departamento del Meta (Colombia), para realizar seguimiento durante 6 meses de su crecimiento y condición corporal, midiendo mensualmente la longitud total (cm), longitud anal (cm), ancho de la cabeza (cm) contorno del cuerpo (cm) y peso corporal (Kg). La observación continuó durante 6 meses adicionales para establecer el momento de su primera madurez sexual y determinar así la edad a la pubertad. Cuando presentaron por primera vez signos de madurez sexual, la maduración final de las gónadas, la ovulación y la espermiación fueron inducidas hormonalmente (Extracto de Hipófisis de Carpa – EHC y Ovaprim – OVAP), evaluando en total cinco protocolos de administración de las hormonas. La mayor ganancia de peso y de talla se presentaron en las fincas 2 (0,41Kg) y 5 (6,1cm), observándose que las hembras presentaron mayor desarrollo corporal que los machos. Teniendo en cuenta el diámetro ovocitario post-inducción (868,0 ± 98,6 μm) y las fecundidades absoluta (638.248 ± 129.381 ovocitos/hembra) y relativa (207.479 ± 27.550 ovocitos.Kg^{-1}), la mejor respuesta ovárica al tratamiento hormonal se observó con los

protocolos basados en EHC. Igualmente, el protocolo más efectivo para aumentar el volumen seminal (3,3 ± 0,8mL), la movilidad espermática (58,0 ± 13,9 %), la duración de la motilidad (62,2 ± 7,4 seg) y la viabilidad espermática (95,6 ± 1,8 %) fue también aquel basado en EHC; sin embargo, la concentración espermática más alta se observó cuando se administró OVAP (4.430 ± 915,9 x 10^6 espermatozoides/μL). En conclusión, bajo condiciones de cautiverio, los primeros signos de madurez sexual de la especie se pueden presentar entre los 22 y 24 meses de edad, lo cual puede considerarse como la edad a la pubertad de la especie.
PALABRAS CLAVE: Gónadas; inducción hormonal; *Leiarius marmoratus*; pubertad; silúridos nativos.

EVALUATION OF THE REPRODUCTIVE BEHAVIOR AND DETERMINATION OF YAQUE'S (*Leiarius marmoratus*) MALES AND FEMALES PUBERTY AGE UNDER CAPTIVE CONDITIONS

ABSTRACT: 250 fourteen-month-old yaques (*L. marmoratus)* were split in five fishing farms of the department of Meta (Colombia). This distribution was performed in order to monitor monthly their growth and body condition by measuring their total length (cm), anal length (cm), head width (cm), body girth (cm) and body weight (Kg) during a period of six months. The observation was performed for six more months so as to establish the time for their first sexual maturity and determine the age of puberty. Once the first signs of sexual maturity were observed, the gonads final maturation, ovulation and spermiation were hormonal induced (Carp Pituitary Extract - CPE and Ovaprim - OVAP), assessing five hormone administration protocols in total. The greatest gain in weight and length were observed in the fishing farms 2 (0,41Kg) and 5 (6,1cm) where females showed greater body development than males. Based on the after-induction ovarian diameter (868,0 ± 98,6 μm) and the absolute fecundity (638.248 ± 129.381 oocytes/female) and relative fecundity (207.479 ± 27.550 oocytes.Kg^{-1}), the best ovarian response to the hormonal treatment was observed in protocols under CPE. Similarly, the protocol under CPE was also the most effective in increasing the seminal volume (3,3 ± 0,8mL), the sperm motility (58,0 ± 13,9 %), the duration of motility (62,2 ± 7,4 sec.) and the sperm viability (95,6 ± 1,8 %); nonetheless, the highest sperm concentration was seen when OVAP (4.430 ± 915,9 x 10^6 spermatozoa/μL) was administered. In conclusion, the first signs of sexual maturity in *L. marmoratus* may appear around the age of 22 and 24 months in captivity conditions, which can be considered as the species puberty age.
KEYWORDS: Gonads; hormonal induction; *Leiarius marmoratus*; puberty; reproduction; silurid fish.

INTRODUCCIÓN

El yaque (*Leiarius marmoratus*), es un pez reofílico suramericano que pertenece a la familia siluridae y habita generalmente ambientes acuáticos demersales de las cuencas de los ríos Amazonas, Essequibo y Orinoco (Castillo, 2001; Ramírez Gil & Martínez Ajiaco, 1997). Su reproducción es estacional, ocurriendo ésta entre los meses de abril y junio (época de lluvia), alcanzando los animales adultos una longitud total promedio de 100 cm y un peso corporal de 12 kg, aproximadamente. Ostenta una carne blanca muy apetecida en

los mercados locales debido a sus características organolépticas (textura, sabor y pocas espinas), convirtiéndolo en un pez de cuero de interés para la acuicultura nacional (Ramírez y Ajiaco, 1997).

Algunos trabajos preliminares realizados en el Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos – IALL (Colombia), han mostrado una buena adaptación de la especie al confinamiento logrando adaptar paulatinamente sus hábitos alimenticios piscívoros (propio de la especie en ambientes naturales) (Layman Craig A., Winemiller Kirk O., Arrington D. Albrey, & Jepsen David B., 2005) u omnívoros (Novoa R, 2002; Ramírez Gil & Martínez Ajiaco, 1997) al consumo específico de dietas secas comerciales (Cruz Casallas et al., 2008). De igual forma han realizado investigaciones encaminadas hacia la estandarización de protocolos para la inducción hormonal de machos de *L. marmoratus* bajo condiciones específicas de cautiverio, obteniendo resultados favorables para la piscicultura (Tatiana Mira, Medina, & Cruz, 2010).

No obstante, resulta poco probable fomentar su cultivo a escala comercial si no se conoce con amplitud el comportamiento reproductivo de las hembras bajo las mismas condiciones de cautividad, teniendo en cuenta que la reproducción de la especie puede verse afectada por diferentes factores tales como las condiciones climáticas y/o medioambientales diferentes a las que encuentran en su entorno natural, a la nutrición y al estrés producido por la captura y/o confinamiento en que se encuentren los animales, afectando de manera directa su reproducción (Sumpter et al., 1994; Pankhurst y Van der Kraak, 1997; Zohar y Mylonas, 2001). Por lo anterior, un grupo de investigaciones se han desarrollado con el fin de establecer la edad en que los peces criados en cautiverio inician su madurez sexual, dentro de los cuales se encuentra el realizado por (Davis, 2009) donde determinaron si la maduración sexual del *Ictalurus punctatus* es dependiente de la talla y edad del animal, o del número de ciclos de temperaturas anuales al que son sometidos. De igual forma, (Cubillos S., Canales A., Bucarey S., Rojas S., & Alarcón M., 1999) efectuaron en Chile un estudio evaluando la estacionalidad del período reproductivo de la sardina común *(Strangomera bentincki)* y anchoveta *(Engraulis ringens)* y sus cambios interanuales, como también la determinación de la talla de la primera madurez sexual de ambas especies. Es por ello, que este trabajo tiene como objetivo principal conocer el comportamiento reproductivo del Yaque (*L. marmoratus*) cuando es producido en cautiverio, con el fin de optimizar su periodo reproductivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio: La investigación se llevó a cabo entre los meses de Agosto del 2010 a Julio del 2011 en cinco estaciones piscícolas del Departamento del Meta (Colombia), así: Villa Lucy (Finca 1), ubicada en el municipio de Puerto López (178 m.s.n.m; temperatura media de 26,5ºC); Munuanú (Finca 2) y Aguallano (Finca 4), pertenecientes al municipio

de Restrepo (570 m.s.n.m; temperatura media de 25,8ºC); Alevinos del Meta (Finca 3), del municipio de Guamal (525 m.s.n.m; temperatura media de 26ºC); y El Paraíso (Finca 5) perteneciente al municipio de Cumaral (452 m.s.n.m; temperatura promedio de 21ºC).

La evaluación ovocitaria y seminal de los animales seleccionados para reproducción artificial se realizó en el Laboratorio de Reproducción y Crioconservación del Instituto de Acuicultura y Pesca de la Universidad de los Llanos (IALL), ubicado a 12 kilómetros del municipio de Villavicencio (Meta), a una altura sobre el nivel del mar de 418 metros, pluviosidad de 4050mms anuales, humedad relativa del 75% y temperatura ambiental media de 27ºC.

Material biológico y manejo de los animales: Los animales (machos y hembras) se obtuvieron de tres parejas reproductoras silvestres desovadas en la estación piscícola del IALL entre los meses de Mayo y Junio del año 2009. Un stock de 250 animales fue distribuido entre las cinco estaciones piscícolas vinculadas a la investigación (50 peces/finca), a los cuales se les realizó marcaje de manera individual a través de microchips implantados en la región dorsal de los mismos. La densidad de siembra utilizada fue de 200 $gr.m^{2\ -1}$ y su alimentación correspondió a dieta comercial con 30% de proteína bruta (PB) a razón del 2% de la biomasa total de cada estanque, variando la cantidad de alimento según el peso promedio registrado durante los muestreos mensuales.

Variación del crecimiento y condición corporal de machos y hembras desde los 12 hasta los 18 meses de edad: Para la evaluación del crecimiento y condición corporal de los animales, se realizó un muestreo mensual al 50% de los individuos (25 ejemplares seleccionados al azar) en cada estación piscícola, desde el mes de Septiembre/2010 a Marzo/2011, determinando el peso corporal (Kg) y medidas morfométricas como longitud total (cm), longitud anal (cm), ancho de la cabeza (cm) y contorno del cuerpo (cm) de los animales muestreados. Para establecer el peso individual, se utilizó una báscula electrónica (Jaz International Trading LTD, Colombia) con 0,001 de precisión. Entre tanto, las medidas morfométricas de los animales se tomaron mediante la utilización de un ictiómetro.

Determinación de la edad a la pubertad y evaluación del desarrollo y maduración gonadal de hembras y machos entre los 12 y 24 meses de edad: Para la determinación de la edad a la pubertad y evaluación del desarrollo y maduración del ovario mediante características sexuales secundarias, se realizaron biopsias ováricas (Garcia, 1989) a hembras seleccionadas aleatoriamente durante los muestreos mensuales realizados. La biopsia consistió en la introducción de un catéter plástico en la papila urogenital, obteniendo una muestra representativa de ovocitos (±70 ovocitos/hembra) y almacenándolos en un tubo eppendorf con cloruro de sodio al 0,9% para mantener las muestras estables hasta la evaluación de los mismos. Posteriormente, se dispusieron en cajas de petri para su observación bajo un estereoscopio binocular (Nikon SMZ 800, Japón) y determinar así el diámetro ovocitario (μm). Luego, los ovocitos fueron impregnados con solución Serra, compuesta de 85% de Alcohol, 10% de Formol y 5% Ácido Acético Glacial, la cual tiene

como efecto aclarar el vitelo del ovocito para poder determinar la posición de la vesícula germinal (central, migrando o periférica). Con base en el diámetro ovocitario y posición de la vesícula germinal se estimó el estadio de maduración ovárico.

Para evaluar el estado de desarrollo y maduración testicular se tuvo en cuenta características sexuales secundarias como lo es la presencia o no de semen en la papila urogenital después de realizar un leve masaje en sentido cráneo-caudal de la región celómica del animal. A los animales que presentaron emisión de semen se les fue colectado para realizar el posterior análisis del mismo, determinando volumen seminal (ml), movilidad masal (%), duración de la motilidad espermática (seg), viabilidad espermática (%), osmolaridad (mOsm.Kg^{-1}) y concentración espermática (sptz x $10^6/\mu$L) a cada individuo. Para la evaluación del volumen seminal se utilizaron tubos eppendorf aforados de 1,5 ml; la movilidad masal y la duración de la motilidad se determinaron mediante la colocación de 20μL de semen sobre una lámina excavada (Micro-Slides Premiere, China) con 180μL de agua destilada (1:20) para la activación del mismo y observado a través de un microscopio óptico (Axiostar-Carl Zeiss, USA) con magnificación de 10X; la duración de la motilidad se estimó desde la mezcla del agua destilada con el semen hasta el momento en que el 90% de las células cesaran su movimiento. La viabilidad espermática fue determinada mediante la realización de un extendido {mezcla de 5 μL de semen + una gota (20μL) de eosina-nigrosina (Sigma Chemical Co., USA)} sobre una lámina portaobjetos (Waldemar Knittel, Germany) y observada a través de un microscopio óptico (Axiostar-Carl Zeiss, USA), magnificación 10X. La osmolaridad espermática se evaluó mediante un osmómetro (Osmette III – Precision System INC, USA), utilizando 10μL de semen. Por último, la concentración espermática fue determinada a través de una cámara de Neubauer de 0,100mm de profundidad (Optik Labor, Germany).

Evaluación a la inducción hormonal: Se realizó inducción hormonal a treinta y cuatro (34) ejemplares, entre hembras (2,79 ± 0,1Kg) y machos (1,32 ± 0,03Kg) que mostraron signos secundarios de madurez gonadal (enrojecimiento y protrusión de la papila urogenital en hembras y emisión de semen en machos luego de realizar masaje abdominal). Estos ejemplares fueron trasladados 24 horas antes de dar inicio a la inducción hormonal a piletas circulares de cemento con 2,0m^3 de agua, disponiendo de aireación constante. Para la inducción a la maduración gonadal se utilizaron dos inductores hormonales, Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC) y una mezcla comercial de análogo superactivo de Hormona Liberadora de Gonadotropina + Bloqueador de los receptores de D2 de Dopamina - OVAPRIM® (OVAP), mediante aplicación intramuscular (IM) en la región dorsal de los animales.

Los protocolos utilizados para las hembras fueron: **EHC** = 2,75mg.Kg^{-1} {0,25mg. Kg^{-1} (0h), 0,5mg.Kg^{-1} (9h), 2mg.Kg^{-1} (18h)}; **OVAP** = 0,5ml.Kg^{-1} (Única inyección). Entre tanto, los machos seleccionados se indujeron mediante aplicación de tres protocolos bajo dos inductores hormonales: **EHC^1** = 2,7mg.Kg^{-1} {0,2mg.Kg^{-1} (0h), 0,5mg.Kg^{-1} (9h), 2mg.

Kg^{-1} (18h)}; **EHC²** = 7,5mg.Kg^{-1} {0,5mg.Kg^{-1} (0h), 2mg.Kg^{-1} (9h), 5mg.Kg^{-1} (18h)}; y **OVAP** = 0,25ml.Kg^{-1} (Única aplicación); Grupo control (machos) = 0,5ml de solución salina fisiológica (Única inyección aplicada con la última dosis de los animales tratados).

Para la obtención de los gametos (ovocitos y espermatozoides), los animales previamente fueron tranquilizados mediante inmersión en una solución con 2-Fenoxietanol (J.T. Baker, USA) a una dosis entre 300-400ppm, hasta observar la pérdida del eje de nado. Para el caso de los machos, las variables a evaluar fueron volumen seminal (cm), movilidad masal (%), tiempo de activación (seg) y viabilidad espermática (%), osmolaridad seminal (mOsm/Kg) y concentración espermática (sptzx10^6/μL). Entre tanto, a las hembras se les evaluaron variables tales como diámetro ovocitario pre y post inducción (μm), fecundidad absoluta (#ovocitos/hembra) y relativa (#ovocitos/Kg).

Monitoreo de la calidad del agua y de condiciones ambientales: Parámetros físico-químicos del agua como temperatura (ºC), oxígeno disuelto (mg/L), saturación de oxígeno (%), conductividad eléctrica (μs/cm), pH y sólidos disueltos (mg/L) fueron medidos mensualmente durante los muestreos realizados. Para la medición de la temperatura, oxígeno disuelto, saturación de oxígeno, conductividad eléctrica y sólidos disueltos se utilizó una sonda multi-paramétrica YSI (YSI Professional Plus Ohaus, USA). El pH fue medido mediante la utilización de un pH-metro (Waterproof Hanna, Mauritius).

Así mismo, variables hidrometeorológicas como temperatura ambiental (ºC), brillo solar horaria (horas), nubosidad horaria (octas) y precipitación (mms) fueron consultadas mensualmente (Fuente IDEAM) con el fin de evaluar la posible influencia de las mismas sobre el comportamiento reproductivo de los peces (hembras y machos).

Análisis estadístico: Los datos fueron expresados como media ± error estándar de la media (SEM). La información obtenida fue procesada mediante análisis de varianza (ANOVA), verificando con anterioridad los supuestos de normalidad (prueba de Kolmogorov-Simirnov). Para comparar las medias entre muestreos y estaciones piscícolas, se utilizó prueba de Tukey (una vía) y t-student para los casos donde solo evaluábamos dos variables. En todos los casos $p<0,05$ fue utilizado como criterio estadístico para revelar diferencias significantes. La totalidad de los procedimientos estadísticos fueron realizados mediante el Software GraphPad Prism 5,01 para Windows (GraphPad Software, USA).

RESULTADOS

Variación del crecimiento y condición corporal de machos y hembras desde los 12 hasta los 18 meses de edad: Dentro de la variable peso corporal (Kg) (Fig. 1), en las fincas 1 y 3 no se observaron diferencias significativas entre muestreos al interior de cada finca (p>0,05), presentándose un peso inicial (*Pi*) de 1,62±0,1Kg y peso final (*Pf*) de 1,75±0,1Kg para la finca 1 y de 1,60±0,1Kg de *Pi* y 1,90±0,1Kg de *Pf* para la finca 3. Entre tanto, en las fincas 2, 4 y 5 los valores difirieron estadísticamente entre los muestreos

al interior de cada finca ($p<0,05$). Para la finca 2, el *Pi* fue de 1,42±0,1Kg y el *Pf* de 1,83±0,1Kg; en la finca 4, el *Pi* fue de 1,43±0,07Kg y el *Pf* de 1,75±0,1Kg; mientras que los datos obtenidos en la finca 5 mostraron un *Pi* de 1,70±0,1Kg y *Pf* de 2,05±0,1Kg. Como se observa en la figura 1, en todas las fincas se presentó ganancia de peso corporal (*GP = peso final – peso inicial*).

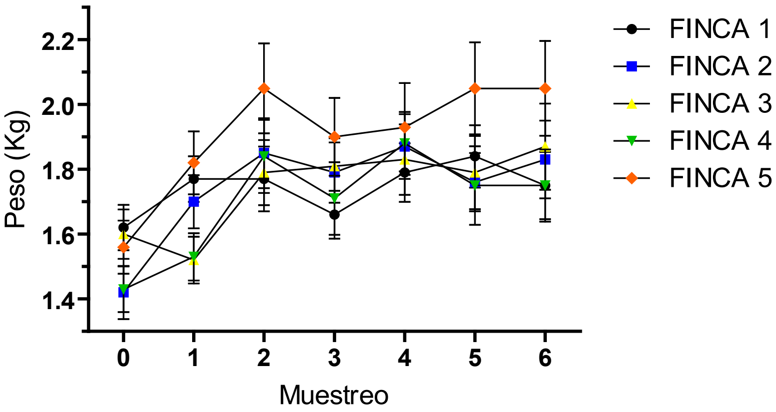


Fig 1. Peso corporal (Kg) de individuos de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidos en estanques de tierra durante los muestreos mensuales realizados. Los valores son mostrados como media ± SEM.

Fig 1. Body weight (Kg) of Yaque individuals (*L. marmoratus*) kept in earthen ponds during the monthly samplings carried out. The values are shown as mean ± SEM.

Respecto a la longitud total (cm) (Fig. 2), las fincas 1, 3 y 4 no presentaron diferencias significativas ($p>0,05$), con una longitud inicial (*Li*) de 56,8±0,8cm y longitud final (*Lf*) de 57,0±1,1cm para la finca 1, de 57,8±0,8cm (*Li*) y 60,2±1,3cm (*Lf*) para la finca 3, y 56,5±0,8 (*Li*) y 58,6±1,2cm (*Lf*) para la finca 4. No obstante, las fincas 2 y 5 sí difirieron estadísticamente entre los muestreos al interior de cada finca ($p<0,05$), con valores de 56,3±0,8cm (*Li*) y 61,1±1,4cm (*Lf*) para la finca 2 y de 57,8±0,1cm (*Li*) y 63,9±1,5cm (*Lf*) para la finca 5. Al igual que en la variable peso corporal, se observó ganancia de talla (*GT = longitud final – longitud inicial*) en las cinco fincas.

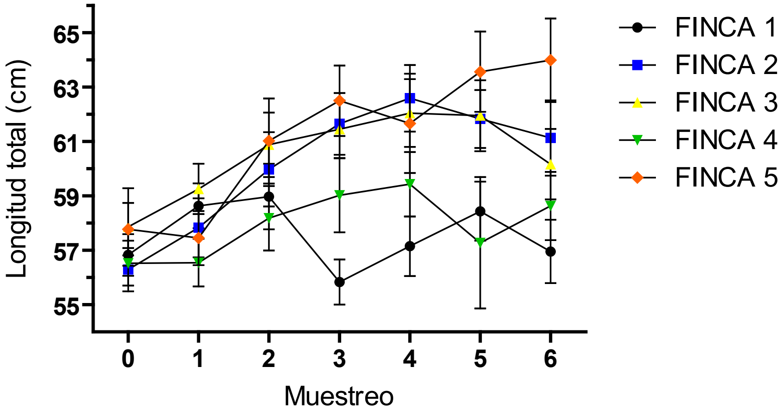


Fig 2. Longitud total (cm) de individuos de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidos en estanques de tierra durante los muestreos mensuales realizados. Los valores son mostrados como media ± SEM.

Fig 2. Total length (cm) of Yaque individuals (*L. marmoratus*) kept in earthen ponds during the monthly sampling. The values are shown as mean ± SEM.

En la variable ancho de la cabeza no hubo diferencias significativas para las fincas 3, 4 y 5 (p>0,05) alcanzando promedios de 10,3±0,09, 10,4±0,08 y 10,4±0,1cm, respectivamente; entre tanto, las fincas 1 y 2 presentaron diferencias estadísticas al comparar los muestreos al interior de cada finca (p<0,05), alcanzando promedios de 10,4±0,2 y 10,4±0,1cm, respectivamente (Fig. 3). Al evaluar contorno del cuerpo (cm), no se presentaron diferencias significativas en las fincas 1, 2, 3 y 5 (p>0,05), mientras que la finca 4 presentó diferencias al interior de sus muestreos con un valor promedio en el muestreo uno de 25,5±0,5cm y en el muestreo seis de 27,6±0,8cm (Fig. 4).

Entre tanto, al comparar la longitud anal (cm) entre los muestreos al interior de cada finca, no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas en ninguna de las 5 fincas muestreadas mensualmente (p>0,05), obteniendo valores para la finca 1 de 24,0±0,2cm, finca 2 de 24,5±0,1cm, para la finca 3 de 24,5±0,06cm, finca 4 de 23,6±0,2cm y finalmente para la finca 5 de 25,4±0,2cm. Los valores para esta variable se presentaron como media ± SEM.

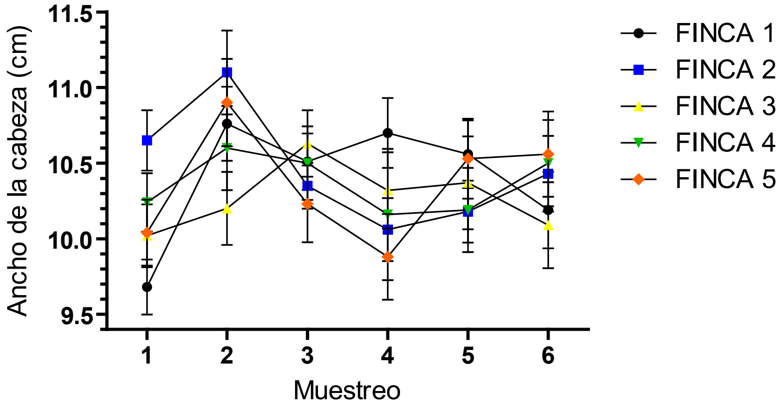


Fig 3. Ancho de la cabeza (cm) de individuos de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidos en estanques de tierra durante los muestreos mensuales realizados. Los valores son mostrados como media ± SEM.

Fig 3. Head width (cm) of Yaque individuals (*L. marmoratus*) maintained in earthen ponds during monthly sampling. The values are shown as mean ± SEM.

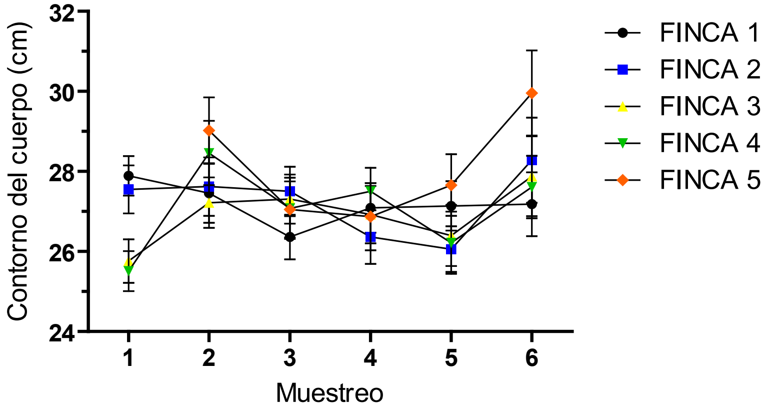


Fig 4. Contorno del cuerpo (cm) registrado en individuos de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidos en estanques de tierra durante los muestreos mensuales realizados. Los valores son mostrados como media ± SEM. *En la finca cinco no se tomó registro durante el muestreo uno.

Fig. 4. Contour of the body (cm) registered in individuals of Yaque (*L. marmoratus*) kept in earthen ponds during the monthly samplings carried out. The values are shown as mean ± SEM. * On farm five no record was taken during sampling one.

Desarrollo y maduración gonadal de hembras y machos entre los 18 y 24 meses de edad: Al evaluar el diámetro ovocitario (*µ*m) de las hembras de Yaque (*L. marmoratus*) durante los muestreos realizados previos a la época reproductiva e inducción hormonal, se encontraron diferencias estadísticas entre las fincas 1 y 3 (583,5*µ*m y 679,2*µ*m respectivamente), mientras que las fincas 2, 4 y 5 presentaban el mayor tamaño (692,8*µ*m, 708,4*µ*m y 691,4*µ*m, respectivamente) sin presentar diferencias estadísticas entre ellas

(Figura 5). De igual forma, la posición de la vesícula germinal de los ovocitos correspondían a posición central, siendo la finca 5 la que presentó el menor valor (65,2 ± 3,6%) y la finca 4 la de mayor porcentaje de ovocitos centrales (85,3 ± 2,4%); seguidos por la posición en migración, donde la finca 5 obtuvo el valor más alto (31,2 ± 3,7%) y la Finca 4 el de menor porcentaje (14,2 ± 2,5%); y por último, ovocitos con núcleos en la periferia, siendo en la Finca 5 donde más se presentan (3,6 ± 0,8%) y en la finca 4 donde menos porcentaje existe (0,4 ± 0,3%) (Figura 6).

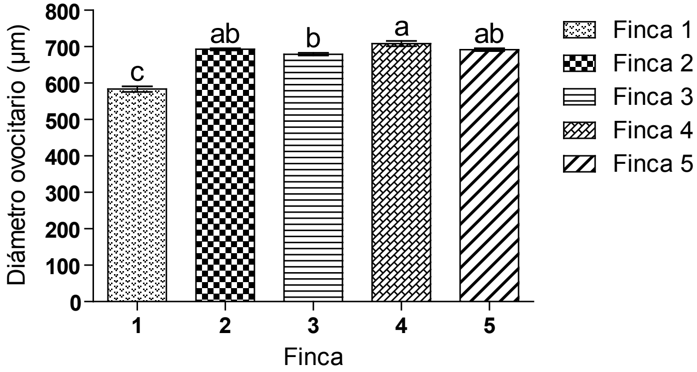


Fig 5. Diámetros ovocitarios (µm) previos a la época reproductiva e inducción hormonal de hembras de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidas en estanques de tierra. Barras con letras desiguales difieren estadísticamente entre fincas según test de Tukey (p<0,05). Los valores son mostrados como media ± SEM.

Fig 5. Oocyte diameters (µm) prior to the reproductive season and hormonal induction of Yaque females (*L. marmoratus*) kept in earthen ponds. Bars with unequal letters differ statistically between farms according to the Tukey test (p <0.05). The values are shown as mean ± SEM.

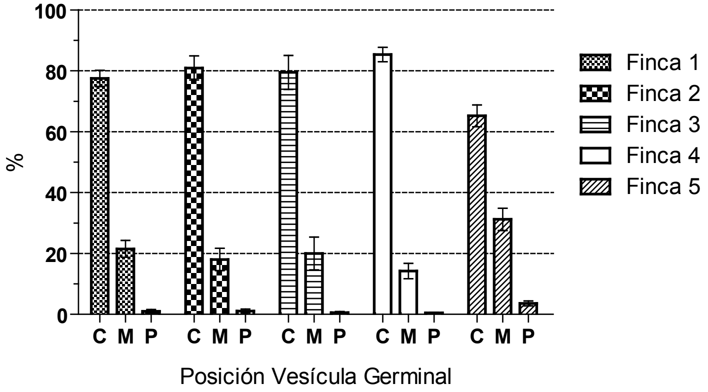


Fig 6. Posición de la vesícula germinal (%) de ovocitos previos a la época reproductiva e inducción hormonal de hembras de Yaque (*L. marmoratus*) mantenidas en estanques de tierra. C = centrales; M = migrando; P = periféricos. Los valores son mostrados como media ± SEM.

Fig. 6. Position of the germinal vesicle (%) of oocytes prior to the reproductive season and hormonal induction of Yaque females (*L. marmoratus*) kept in earthen ponds. C = central; M = migrating; P = peripheral. The values are shown as mean ± SEM.

Respecto a la evaluación en campo de características seminales como la movilidad masal (%), la duración de la motilidad (%) y la viabilidad espermática (%), no se presentaron diferencias al comparar cada variable entre las fincas. No obstante, el análisis estadístico fue limitado debido a que pocos animales al momento de los muestreos emitieron semen luego del masaje abdominal de los mismos, no permitiendo efectuar evaluación estadística completa (Tabla 1).

Finca	Muestra (n)	Movilidad (%)	Tiempo de activación (seg)	Viabilidad (%)
1*	0	---	---	---
2	8	55,0 ± 10,5	40,3 ± 10,8	100,0 ± 0,0
3	2	85,0 ± 5,0	48,6 ± 0,6	99,0 ± 1,0
4**	1	30,0 ± 0,0***	32,0 ± 0,0***	97,0 ± 0,0***
5	2	60,0 ± 30,0	41,0 ± 1,0	84,6 ± 14,3

No se presentaron diferencias estadísticas significativas entre fincas según test de Tukey (p>0,05). Los valores son mostrados como media ± SEM.

*Los animales no presentaron emisión de semen durante los muestreos realizados.

**Los datos de esta finca fueron tomados de un solo animal.

***No se tuvo en cuenta en el análisis estadístico debido a que solo existe un dato.

TABLA 1 - Características seminales de machos de Yaque (*L. marmoratus*) evaluadas en campo previo a la época reproductiva de la especie.

TABLE 1 - Seed characteristics of Yaque males (*L. marmoratus*) evaluated in the field prior to the reproductive age of the species.

Inducción hormonal de hembras y machos: En cuanto a los dos tratamientos utilizados para la inducción hormonal de las hembras {Extracto de Hipófisis de Carpa (EHC) y OVAPRIM® (OVAP)}, se presentó menor tiempo de latencia con el EHC respecto al OVAP (214,3±48,2 y 281±27,1°h respectivamente). El diámetro ovocitario pre y post-inducción no presentó diferencias estadísticas al ser comparado entre tratamientos y dentro del mismo tratamiento. Sin embargo, se evidenció aumento del diámetro en ambos tratamientos debido al efecto ejercido por la inducción hormonal {EHC=744,8±14,0μm (Pre-Inducción) y 868,0±98,6μm (Post-Inducción); OVAP=762,8±28,3μm (Pre-Inducción) y 825,0±68,1μm (Post-Inducción)}. En cuanto a la fecundidad absoluta, los valores obtenidos con el tratamiento de EHC fue de 638.248±129.381ovocitos/hembra y con OVAP de 329.617±88.889ovocitos/hembra; entre tanto, la fecundidad relativa determinada para EHC fue de 207.479±27.550ovocitos/Kg y para el tratamiento con OVAP de 127.430±35.148ovocitos/Kg, donde en ninguno de ellos para esta variable se presentaron diferencias estadísticas significativas al comparar cada una de ellas entre tratamientos (p>0,05) (Tabla 2).

En el presente estudio, del total de las hembras inducidas (n=10) el 50% de ellas murieron posterior a la ovulación (cuatro de ellas en menos de 24 horas y una a los 8 días), de las cuales el 20% pertenecían al protocolo con EHC (n=2) y el 30% restante a las inducidas con OVAP (n=3). Así mismo, las hembras que no respondieron positivamente al tratamiento de inducción hormonal para la maduración gonadal presentaron prolapso del tejido ovárico, siendo necesaria la toma de medidas profilácticas, tales como la aplicación de AINES (Flunixin Meglumine 50%) con dosis única de 1,1 $mg.Kg^{-1}$ y del uso de antibiótico (Oxitetraciclina 20%) aplicando 1ml/animal en la musculatura dorsal. El anterior tratamiento profiláctico se aplicó a hembras desovadas y a machos espermiados.

T	**Rta.**	**LAT (˚h)**	**Tº Agua (˚C)**	**DO Pre (µm)***	**DO Pos (µm)***	**FA (ovocitos/ hembra)****	**FR (ovocitos/ Kg)****
EHC	3/5	214,3±48,2	26,6±0,7	744,8±14,0	868,0±98,6	638.248±129.381	207.479±27.550
OVA	4/5	281,0±27,1	25,7±0,1	762,8±28,3	825,0±68,1	329.617±88.889	127.430±35.148

Los valores son mostrados como media ± SEM. *No se presentaron diferencias significativas al realizar comparaciones al interior de cada tratamiento y entre tratamientos según test de Tukey (p>0,05). **No se presentaron diferencias significativas entre tratamientos según prueba t-student (p>0,05). T: tratamiento; Rta.: respuesta (animales que respondieron a la inducción hormonal/animales inducidos); LAT: periodo de latencia; Tº agua: temperatura del agua; DO Pre: diámetro ovocitario pre-inducción; DO Pos: diámetro ovocitario post-inducción; FA: Fecundidad absoluta; FR: Fecundidad relativa.

TABLA 2 - Inducción hormonal a la maduración gonadal de hembras de Yaque *(L. marmoratus)* mantenidas en estanques de tierra e inducidas bajo dos inductores hormonales.

TABLE 2 - Hormonal induction to gonadal maturation of Yaque females (*L. marmoratus*) maintained in earthen ponds and induced under two hormonal inducers.

Respecto a la evaluación de la inducción hormonal en machos, la totalidad de los animales tratados, excluyendo al grupo control, presentaron espermiación con un patrón de color seminal blanquecino. Así mismo, en lo que se refiere a volúmen seminal (ml), movilidad masal (%) y tiempo de activación (seg) los valores más altos se presentaron en los animales tratados con EHC^2 (3,3±0,8ml; 58,0±13,9%; 62,2±7,4seg, respectivamente) (Tabla 3). No obstante, al comparar la concentración espermática entre los tres tratamientos, el mayor valor se encontró en aquellos animales inducidos con OVAP (4.430±915,9sptzx10^6/µL) y la menor concentración con el protocolo EHC^1 (962,8±3.515sptzx10^6/µL). En ninguna de las variables evaluadas se presentaron diferencias estadísticas significativas, exceptuando en la concentración espermática (Tabla 3).

T	Rta	Volúmen (ml)	Movilidad (%)	Tiempo Activación (seg)	Viabilidad (%)	Osmolaridad (mOsm/kg)	Concentración (sptz x $10^6/\mu L$)
EHC[1]	5/5	2,0±0,4	43,7±23,9	48,0±24,4	69,6±18,8	258,2±7,4	962,8±3.515^{b}
EHC[2]	5/5	3,3±0,8	58,0±13,9	62,2±7,4	95,6±1,8	262,8±2,5	2.707±797,4^{ab}
OVAP	10/10	1,5±0,3	54,4±12,3	61,8±7,6	92,3±5,2	276,2±4,9	4.430±915,9^{a}
CONTROL*	1/4	1,0±0,0	0,0±0,0	---	100±0,0	346,0±0,0	1.610±0,0

Letras diferentes dentro de la misma columna difieren estadísticamente según test de Tukey (p<0,05). Los valores son mostrados como media ± SEM. *No se tiene en cuenta en el análisis de varianza (ANOVA) entre tratamientos, debido a que en éste grupo solo existe un dato. T: tratamiento; Rta: respuesta (animales que respondieron a la inducción hormonal/animales inducidos).

TABLA 3 - Características seminales de Yaque *(L. marmoratus)* mantenidos en estanques de tierra e inducidos a la espermiación bajo tres protocolos hormonales.

TABLE 3 - Yaque (*L. marmoratus*) seminal characteristics maintained in earthen ponds and induced to spermia under three hormonal protocols.

Calidad del agua y condiciones ambientales: De los parámetros físico-químicos evaluados, se presentó variación estadística en la conductividad eléctrica (µs/cm), sólidos disueltos totales (mg/L) y temperatura del agua (ºC) presentándose los valores más altos de conductividad (62,6±14,8µs/cm) y sólidos disueltos (43,8±9,8mg/L) en la finca 4, mientras que la finca 1 presentó la temperatura del agua elevada (27,9±0,2ºC). Las variables oxígeno disuelto (mg/L), saturación de oxígeno (%) y pH no presentaron diferencias estadísticas significativas al compararlas entre las fincas (p>0,05). La tabla 4 muestra en detalle cada parámetro evaluado durante los muestreos mensuales realizados en las fincas.

Finca	Oxígeno disuelto (mg/L)	Saturación de oxígeno (%)	Conductividad (µs/cm)	pH	Sólidos disueltos (mg/L)	Temperatura del agua (ºC)
1	1,4 ± 0,3^{a}	17,0 ± 4,5^{a}	45,3 ± 8,9^{a,b}	6,8 ± 0,2^{a}	28,1 ± 5,4^{a,b}	27,9 ± 0,2^{a}
2	1,9 ± 0,2^{a}	23,0 ± 3,4^{a}	18,7 ± 0,7^{b}	7,0 ± 0,2^{a}	12,6 ± 1,5^{b}	26,9 ± 0,4^{a,b,c}
3	1,7 ± 0,4^{a}	21,1 ± 5,3^{a}	15,1 ± 1,3^{b}	6,9 ± 0,1^{a}	11,1 ± 1,1^{b}	25,9 ± 0,7^{b,c}
4	1,7 ± 0,6^{a}	21,4 ± 6,9^{a}	62,6 ± 14,8^{a}	6,6 ± 0,2^{a}	43,8 ± 9,8^{a}	25,7 ± 0,3^{c}
5	1,9 ± 0,6^{a}	24,6 ± 7,6^{a}	29,9 ± 7,3^{a,b}	6,7 ± 0,1^{a}	22,5 ± 8,3^{a,b}	27,6 ± 0,5^{a,b}

Letras diferentes dentro de la misma columna presentan diferencias significativas entre las fincas según test de Tukey (p<0,05). Los valores son mostrados como media ± SEM.

TABLA 4 - Parámetros físico-químicos del agua de los estanques de las cinco fincas donde se alojaron los reproductores de Yaque (*L. marmoratus*) durante la fase experimental.

TABLE 4 - Physical-chemical parameters of the water in the ponds of the five farms where the Yaque breeding animals (*L. marmoratus*) were housed during the experimental phase.

Respecto a las condiciones ambientales se determinaron parámetros meteorológicos tales como la precipitación (mms), el brillo solar (horas) y la temperatura ambiental (ºC)

de tres estaciones climatológicas del departamento del Meta (Las Margaritas, Puerto López; La Cabaña, Cumaral; La Holanda, Guamal), las cuales cubrían las zonas donde se encontraban ubicadas las estaciones piscícolas vinculadas a la investigación.

Para la finca 1, solo se obtuvieron datos de las tres variables durante los meses de agosto a octubre del 2010. En lo que a *precipitación (mms)* se refiere, el promedio fue de 141mms para este periodo, siendo octubre el mes con menor precipitación (38mms) y agosto el de mayor (210,9mms). Para la variable *brillo solar (horas)*, octubre fue el mes donde mayor brillo solar hubo (189,1 horas) y agosto el mes con menor intensidad lumínica (81,7 horas), presentando un promedio de 134,9 horas. En cuanto a *temperatura ambiental (*ºC*)* se registró un promedio de 26,2ºC, convirtiéndose octubre en el mes con el valor más alto (26,8ºC) y agosto el de menor valor (25,6ºC) (Figura 7a).

En las fincas 2, 4 y 5 se obtuvieron datos de agosto a diciembre del 2010 y de enero a marzo del 2011 en las tres variables. Para el periodo del año 2010, la *precipitación (mms)* promedio fue de 322,3mms, con una precipitación de 451,8mms en el mes de noviembre y 175,2mms durante los días de septiembre. Entre tanto, el *brillo solar (horas)* promedio fue de 122,2 horas, siendo octubre el mes con mayor brillo solar (142,2 horas) y agosto el de menor (76,1 horas). Respecto a la *temperatura ambiental (*ºC*)* el promedio fue de 25,6ºC para el segundo semestre del 2010. Durante el primer trimestre del 2011, la *precipitación (mms)* promedio fue de 74,0mms siendo febrero el mes más lluvioso (114,8mms) y enero el de menor precipitación (40,3mms); el *brillo solar (horas)* promedio fue de 135,7 horas, convirtiéndose enero en el mes con los valores más altos (197,1 horas) y marzo con los más bajos (97,6 horas); y la *temperatura ambiental (*ºC*)* registró un promedio de 26,1ºC (Figura 7b).

Por último, los valores registrados en las tres variables para la finca 3 correspondieron entre los meses de agosto y diciembre del 2010. En cuanto a la *precipitación (mms)* se refiere, los datos más altos se presentaron en el mes de octubre (341,0mms) y los más bajos en agosto (122,0mms), con una media de 225,1 mms. El comportamiento del *brillo solar (horas)*, fue de 130,5 horas promedio para este periodo, con una mayor intensidad de luz en el mes de octubre (172,0 horas) y 99,2 horas en el mes de agosto, siendo esta la más baja durante el periodo evaluado. Entre tanto, la *temperatura ambiental (*ºC*)* promedio fue 25,5ºC (Figura 7c).

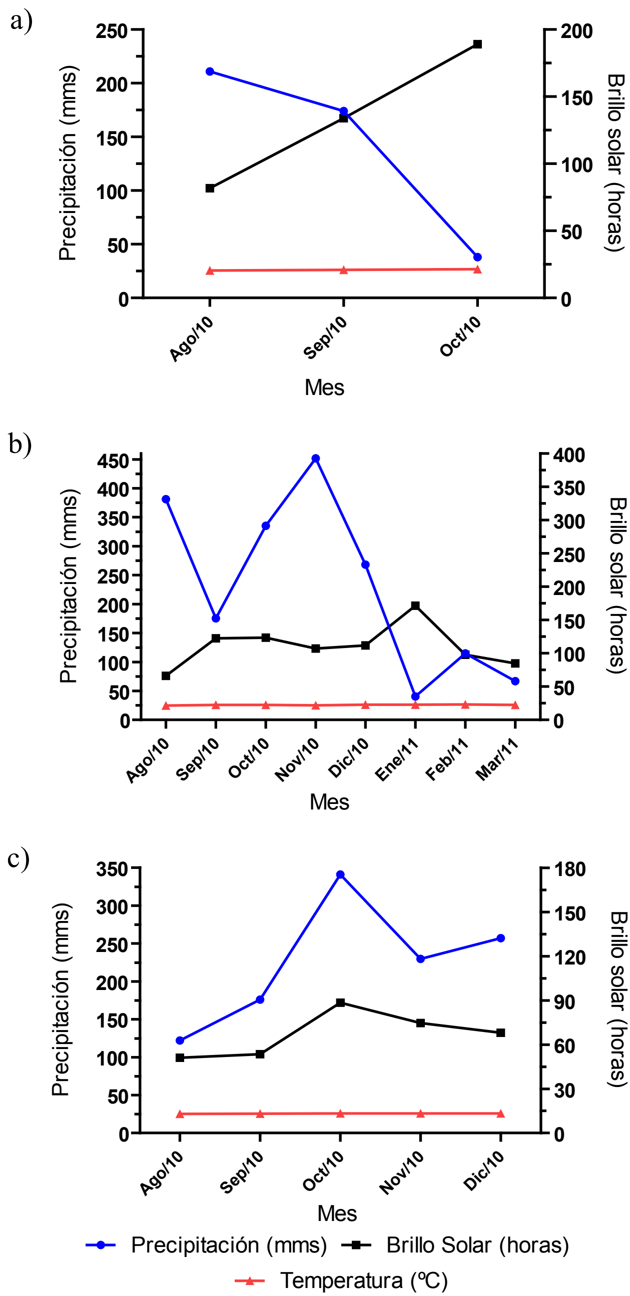


Fig 7. Condiciones ambientales mensuales de las estaciones piscícolas donde se alojaron los Yaques (*L. marmoratus*) hembras y machos durante la fase experimental. a). Finca 1 (Puerto López). b) Finca 2, 4 y 5 (Cumaral y Restrepo). c). Finca 3 (Guamal). Los valores son mostrados como media.

Fig 7. Monthly environmental conditions of the fish stations where the Yaques (*L. marmoratus*) females and males were housed during the experimental phase. to). Finca 1 (Puerto López). b) Farm 2, 4 and 5 (Cumaral and Restrepo). c) Finca 3 (Guamal). The values are shown as average.

DISCUSIÓN

Para lograr optimizar el periodo útil reproductivo de las especies acuícolas, se hace importante conocer claramente el momento en el cual son aptos para realizar su reproducción en cautiverio. Lo anterior, teniendo en cuenta que las condiciones ambientales y de nutrición en que se encuentran y/o adoptan en los sistemas de cultivo, varían ampliamente respecto a los ambientes naturales propios de la especie, pudiendo provocar alteración en la maduración gonadal de hembras y machos, sumado al desconocimiento que se tenga acerca del momento en el cual estos animales puedan ser potencial y eficazmente reproducidos bajo ciertas condiciones. Es por esto que estudios de determinación de la edad a la pubertad de animales utilizados para la reproducción en cautiverio, son necesarios llevarlos a cabo para así lograr un conocimiento más amplio en el ámbito reproductivo de la especie.

Trabajos sobre determinación de la edad a la pubertad en Yaque (*L. marmoratus*) no se han realizado hasta el momento, convirtiéndose esta investigación en un importante referente para estudios futuros. No obstante, (Davis, 2009) realizó un estudio en *Ictalurus punctatus*, demostrando que el peso corporal y la edad de los animales no son características importantes para tener en cuenta al momento de suponer madurez sexual en la especie; en contraste, afirma que la pubertad en esta especie de silúridos es un proceso ligado al número de ciclos lumínicos anuales en que los animales sean expuestos y a los periodos de temperaturas frías, siendo necesarios al menos tres periodos para lograr un desarrollo completo de la madurez sexual de los peces, al menos en esta especie. Por otra parte, (Okuzawa, 2002), afirma que el comienzo de la pubertad se da algunas veces, luego de la diferenciación sexual de los animales la cual está asociada con la maduración y diferenciación completa de las células germinales de las gónadas, como también, al momento en que los reproductores (machos y hembras) tengan la suficiente reserva energética, la cual será necesaria para suplir el desgaste energético provocado por las descargas hormonales durante los eventos reproductivos, calificando el fin de la pubertad al momento en que se presenta el primer evento reproductivo, ya sea ovulación y/o espermiación (Okuzawa, 2002; Taranger et al., 2010)

Respecto a las variables morfométricas y variación del crecimiento, se observaron tallas y pesos corporales mayores en las hembras que en los machos durante el periodo de observación, probablemente debido a la capacidad de fecundidad la cual es característica en un gran número de hembras de peces de cultivo (Taranger et al., 2010). Lo anterior, también ha sido observado por (Leonardo, Romagosa, Borella, & Batlouni, 2004) en *Pseudoplatystoma fasciatum* de primer y segundo ciclo reproductivo, en *Brycon cephalus* por (Romagosa, Narahara, Borella, & Fenerich-Verani, 2001) y en *Pimelodus grosskopfii* por (Valbuena & Cruz-Casallas, 2010), presentando un marcado dimorfismo sexual asociado a la disparidad del crecimiento corporal de hembras y machos dentro de la misma especie.

No obstante, (Cacot et al., 2002)2002 observaron diferencias entre machos y hembras de *Pangasius bocourti* en lo que a peso corporal y talla se refiere (hembras son más grandes y pesadas respecto a los machos), sin reportarla dentro de su estudio como una marcada evidencia de dimorfismo sexual para esta especie.

Los diámetros ovocitarios pre-inducción hormonal para los dos tratamientos (EHC y OVA) del presente estudio fueron mayores a 740μm, obteniendo diámetros post-inducción mayores a 825μm. Por su parte, (Valbuena & Cruz-Casallas, 2010) reportan crecimiento significativo del diámetro ovocitario post-inducción en *Pimelodus grosskopfii* bajo el protocolo de 5,75mg.Kg^{-1} de EHC. De igual forma, (Aya B & Arias C, 2011) obtienen resultados positivos en *Pimelodus pictus* respecto al crecimiento ovocitario post-inducción hormonal con EHC (5,5mg.Kg^{-1} y 7,7mg.kg^{-1}) y Ovaprim® (0,5ml.Kg^{-1} y 1ml.Kg^{-1}), como también lo señala (T. Mira et al., 2007) en *Pseudoplatystoma fasciatum.* Los anteriores reportes concuerdan que este aumento del diámetro ovocitario post-inducción es un indicativo importante de maduración final de las gónadas. No obstante, el anterior crecimiento ovocitario no fue observado por (Leonardo et al., 2004) en *Pseudoplatystoma fasciatum* de primer ciclo reproductivo (2 años y 7 meses de edad) al inducir con EHC {5,5mg.Kg^{-1} divididas en dos dosis (0,5mg.Kg^{-1} y 5,0mg.Kg^{-1} con intervalos de 10 horas entre cada aplicación)} y gonadotropina coriónica humana (HCG) {15,000.Kg^{-1} dividida en dos dosis (5,000.Kg^{-1} y 10,000.Kg^{-1} a las 10 horas luego de la primera aplicación)}, manteniendo el mismo tamaño ovocitario pre y post-inducción hormonal (937,5μm), pero obteniendo resultados positivos en cuanto a tasa de fertilización (%) y producción larval. Resultados que también fueron logrados por (Adebayo & Fagbenro, 2004), logrando resultados favorables en *Heterobranchus bidorsalis* al inducir con diferentes protocolos hormonales.

El tiempo de latencia obtenido en esta investigación para los dos protocolos de inducción hormonal (EHC y OVAP) fueron mayores a los alcanzados por (Aya B & Arias C, 2011) en *Pimelodus pictus* bajo los mismos inductores hormonales, en donde para el caso de EHC el tiempo de latencia promedio lo obtuvieron a las 6,30h con una temperatura del agua de 27,1ºC cuando indujeron a dosis de 5,5mg.Kg^{-1} y a las 6,36h con 27,3ºC de temperatura del agua induciendo con dosis de 7,7mg.Kg^{-1}. De la misma forma, los resultados que obtuvieron al inducir con OVAP bajo dos protocolos (0,5 y 1ml.Kg^{-1}) presentaron menor tiempo entre la aplicación de la última dosis y la ovulación (6,36h a 27,6ºC temperatura del agua y 6,42h a 27,4ºC la temperatura del agua, respectivamente) respecto a lo logrado en el presente estudio bajo los mismos inductores hormonales. Así mismo, (Valbuena & Cruz-Casallas, 2010) en *Pimelodus grosskopfii* alcanzó ovulación a las 7±0,2h con una temperatura del agua de 27,9±0,2ºC al inducir con EHC a dosis de 5,75mg.Kg^{-1}. Lo anterior, podría explicar que la variabilidad de la temperatura del agua (más cálidas o más frías) al momento de realizar actividades de reproducción con especies tropicales, juega un rol importante afectando de forma directa la rapidez en la ocurrencia del evento ovulatorio de las hembras. Por su parte, (Sahoo, Giri, Chandra, & Sahu, 2007), encontraron

que hembras de *Clarias batrachus* inducidas con diferentes cantidades de Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) presentaron periodos de latencia diferentes, aun cuando la temperatura del agua promedio reportada fue constante para todos los tratamientos (27-28,5ºC). Lo anterior, fue evaluado sobre la fecundidad absoluta, porcentaje de fertilización, porcentaje de eclosión y producción larval, obteniendo los mejores resultados cuando fueron inyectadas con 4000UI.Kg^{-1} y desovadas entre las 14 y 17 horas post-inyección (Sahoo et al., 2007). De igual forma, al inducir hembras con diferentes cantidades de Ovaprim (SGnRHa + Domperidona), (Sahoo, Giri, & Sahu, 2005) encontraron que la mejor hora para efectuar el desove luego de inyectada la última dosis de hormona fue a las 23 horas (27-28,5ºC temperatura del agua) obteniendo 4.083 ovocitos en 100gr, mientras que con un tiempo de latencia de 11 horas bajo el mismo protocolo hormonal registraron 1.314 ovocitos en 100gr de huevos. Finalmente, hembras de *Channa punctatus* y *Heteropneustes fossilis* fueron inducidas mediante Ovaprim y Gonadotropina Coriónica Humana (HCG) a diferentes dosis, obteniendo resultados favorables en cuanto a producción de huevos cuando los desoves se realizaron entre las 28 y 34 horas de latencia (27 – 29ºC temperatura del agua) para *C. punctatus* con una dosis de 0,3ml de Ovaprim (3276±75 ovocitos) y 3.000UI de HCG (1253±126 ovocitos); entre tanto, para *Heteropneustes fossilis* los mejores resultados lo obtuvieron entre las 18 y 24 horas de latencia, aplicando 0,7ml de Ovaprim (6692±790 ovocitos) y 3.000UI de HCG (82922±5432 ovocitos) (Haniffa, Abdul, & Sridhar, 2002). Por lo anterior, es importante tener en cuenta que la temperatura del agua no es el único factor externo que puede interferir en este proceso (periodo de latencia), siendo también un punto determinante el tipo de hormona y la cantidad de esta a suministrar, en adición a las condiciones ambientales en que se encuentren los animales, encontrándose una alteración importante cuando se trata de hembras mantenidas bajo condiciones de cautiverio que en animales que habitan en su entorno natural, evidenciándose en el no término de la maduración final ovocitaria, la cual conlleva a dificultades en la ovulación y posterior desove (Zohar 1988, 1989a,b; Peter et al., 1993).

Respecto a la ovulación, los resultados no fueron favorables en su totalidad, teniendo en cuenta la alta mortalidad que se presentó debido al prolapso ovárico producido en las hembras, pudiendo esto haber ocurrido por ausencia o falta de la maduración final ovocitaria los cuales no pueden ser ovulados y por ende, no presentarse el desove (Berlinsky David L., William King V, Hodson Ronald G., & Sullivan Craig V., 1997; Mylonas C. C., Magnus Y., Klebanov Y., Gissis A., & Zohar Y., 1997; Zohar & Mylonas, 2001). Lo anterior, es conocido como una de las principales problemáticas presentadas en la reproducción de hembras de cultivo, creando la necesidad de direccionar un gran número de investigaciones en diferentes especies de peces en temas relacionados con la inducción hormonal utilizada para lograr la maduración final de los ovocitos y su respectiva ovulación (Zohar & Mylonas, 2001).

Entre tanto, la respuesta a la inducción hormonal de los machos fue de un 100%,

mostrando similitud con el trabajo realizado por (Tatiana Mira et al., 2010) en la misma especie, donde el porcentaje de respuesta a la inducción hormonal fue del 100%. No obstante, variables como volumen seminal (ml), movilidad masal (%) y tiempo de activación espermática (seg) mostraron valores menores respecto al mismo protocolo evaluado por (Tatiana Mira et al., 2010) en *L. marmoratus* (2,7mgEHC.Kg^{-1}), obteniendo este último valores de 2,84±0,6ml, 81,4±4,4% y 52,7±5,5seg, respectivamente. Lo anterior, posiblemente se atribuye a que los machos utilizados en el presente trabajo eran juveniles de Yaque *(L. marmoratus)* de dos años de edad e inducidos hormonalmente a la espermiación por primera vez, diferente a los utilizados por (Tatiana Mira et al., 2010), los cuales fueron reportados como machos adultos donde factiblemente ya habían sido seminados mediante estímulo hormonal. Entre tanto, la concentración espermática fue mayor en el presente estudio respecto al valor encontrado en *L. marmoratus* por Mira et al., (2010) (1.873±274sptz x $10^3/\mu L$). A diferencia de lo anterior, (Leonardo et al., 2004) en *Pseudoplatystoma fasciatum* de primer ciclo reproductivo (31 meses de edad) y sin aplicación de inductor hormonal obtuvieron un volumen seminal entre 8,0 y 9,0 ml luego de realizar masaje abdominal, diferente a lo obtenido con el tratamiento control del presente estudio, donde se colectó 1,0 ml de volumen seminal. Estos resultados, demuestran que es necesaria la aplicación de estimuladores hormonales externos en *L. marmoratus* para lograr maduración final de las gónadas, en este caso masculinas, y obtener así resultados satisfactorios en cuanto a espermiación.

En lo que se refiere a la evaluación del comportamiento reproductivo teniendo en cuenta los parámetros meteorológicos evaluados durante la fase experimental, se observó que las tres fincas donde se evidenciaron características secundarias de madurez gonadal en hembras y machos (fincas 2, 4 y 5), fueron aquellas donde se presentó una mayor precipitación, con un promedio de 334,8mms durante el segundo semestre del 2010, comparado con 167,8 y 232,7mms de la finca 1 y 3, respectivamente. De igual forma, en las fincas 2, 4 y 5 el brillo solar promedio fue de 117,5 horas, que aunque no fue el más alto en comparación con las demás fincas, fue constante durante los meses en que se realizó seguimiento, demostrando que factores externos como los ambientales y sus variaciones estacionales, juegan un rol importante en la etapa reproductiva de los peces reofílicos.

Los estudios realizados en este trabajo permitieron conocer en gran parte el comportamiento reproductivo de *L. marmoratus*, mediante la evaluación de la variación del crecimiento y condición corporal de machos y hembras desde los 12 hasta los 18 meses de edad, observando claramente que las hembras obtienen mayor ganancia de peso y crecimiento corporal respecto a los machos, al igual del dimorfismo observado en la papila urogenital de los mismos. Así mismo, la investigación permitió evaluar nuevos protocolos para la inducción hormonal de la especie, obteniendo resultados positivos en cuanto a emisión de semen, permitiendo conocer que el Yaque (*L. marmoratus*) bajo condiciones de cautiverio y con unas condiciones ambientales favorables para la estimulación de su

sistema endocrino, presenta su primer evento reproductivo entre los 22 y 24 meses de edad, constituyéndose en un estudio importante para el establecimiento de esta especie como potencialmente productiva para la acuicultura. Finalmente, se recomienda continuar con la realización de investigaciones relacionadas con la evaluación de protocolos hormonales para la inducción hormonal de hembras bajo condiciones de cautiverio, que permitan obtener fecundidades altas y viables.

REFERENCIAS

Adebayo, O. T., & Fagbenro, O. A. (2004). Induced ovulation and spawning of pond raised African giant catfish, Heterobranchus bidorsalis by exogenous hormones. *Aquaculture*, *242*(1), 229-236. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.07.019

Aya B, E., & Arias C, J. (2011). Reproducción inducida de Pimelodus pictus con extracto de hipófisis de carpa (EHC) y Ovaprim®. *Revista MVZ Córdoba*, *16*(1), 2317-2323.

Berlinsky David L., William King V, Hodson Ronald G., & Sullivan Craig V. (1997). Hormone Induced Spawning of Summer Flounder Paralichthys dentatus. *Journal of the World Aquaculture Society*, *28*(1), 79-86. https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.1997.tb00964.x

Cacot, P., Legendre, M., Dan, T. Q., Tung, L. T., Liem, P. T., Mariojouls, C., & Lazard, J. (2002). Induced ovulation of Pangasius bocourti (Sauvage, 1880) with a progressive hCG treatment. *Aquaculture*, *213*(1), 199-206. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(02)00033-9

Castillo, O. (2001). *Ecología de la reproducción de los bagres comerciales del río Portuguesa.* Universidad Nacional Experimental de los Llanos Occidentales "Ezequiel Zamora" (UNELLEZ).

Cruz Casallas, N. E., Díaz Olarte, J. J., Marciales Caro, L. J., Pabón Peña, F., Medina Robles, V. M., & Cruz Casallas, P. E. (2008). Acondicionamiento a dieta seca de larvas de yaque (Leiarius marmoratus) obtenidas por reproducción artificial. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, *21*(3), 482.

Cubillos S., L., Canales A., M., Bucarey S., D., Rojas S., A., & Alarcón M., R. (1999). Epoca reproductiva y talla media de primera madurez sexual de Strangomera bentincki y Engraulis ringens en el período 1993-1997, en la zona centro-sur de Chile. *Investigaciones marinas*, *27*, 73-85. https://doi.org/10.4067/S0717-71781999002700008

Davis, K. B. (2009). Age at puberty of channel catfish, Ictalurus punctatus, controlled by thermoperiod. *Aquaculture*, *292*(3), 244-247. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.04.023

Haniffa, K., Abdul, M., & Sridhar, S. (2002). Induced spawning of spotted murrel (Channa punctatus) and catfish (Heteropneustes fossilis) using human chorionic gonadotropin and synthetic hormone (ovaprim). *Veterinary Archives*, *72*(1), 51-56.

Layman Craig A., Winemiller Kirk O., Arrington D. Albrey, & Jepsen David B. (2005). Body size and trophic position in a diverse tropical food web. *Ecology*, *86*(9), 2530-2535. https://doi.org/10.1890/04-1098

Leonardo, A. F. G., Romagosa, E., Borella, M. I., & Batlouni, S. R. (2004). Induced spawning of hatchery-raised Brazilian catfish, cachara Pseudoplatystoma fasciatum (Linnaeus, 1766). *Aquaculture*, *240*(1), 451-461. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.11.030

Mira, T., Castro, S. R., Medina-Robles, V. M., Murillo, R. P., Otero-Paternina, A. M., Ramírez-Merlano, J. A., … Cruz-Casallas, P. E. (2007). Ensayos preliminares de reproducción inducida de bagre rayado Pseudoplatystoma fasciatum con extracto de hipófisis de carpa (pp. 67-69). Presentado en XIII Jornada de Acuicultura, Villavicencio, Meta, Colombia.

Mira, Tatiana, Medina, M., & Cruz, P. (2010). Evaluación de tres protocolos hormonales para la inducción de la espermiación en yaque Leiarius marmoratus. *Revista MVZ Córdoba*, *15*(2). Recuperado a partir de http://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/revistamvz/article/view/317

Mylonas C. C., Magnus Y., Klebanov Y., Gissis A., & Zohar Y. (1997). Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass. *Journal of Fish Biology*, *51*(2), 234-250. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1997.tb01662.x

Novoa R, D. F. (2002). Los recursos pesqueros del eje fluvial Orinoco-Apure: presente y futuro. *Instituto Nacional de la Pesca y Acuicultura*, 148.

Okuzawa, K. (2002). Puberty in teleosts. *Fish Physiology and Biochemistry*, *26*(1), 31-41. https://doi.org/10.1023/A:1023395025374

Pankhurst, N. W., Van der Kraak, G., (1997). Effects of stress on reproduction and growth of fish. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P., Schreck, C.B. (Eds.), Fish Stress and Health in Aquaculture. Cambridge Univ. Press, Cambridge, pp. 73–93.

Peter, R. E., Lin, H. R., van der Kraak, G., Little, M. 1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning. In: Muir, J.F., Roberts, R.J. (Eds.), Recent Advances in Aquaculture. Blackwell Scientific, Oxford, pp. 25–30.

Ramírez Gil, H., & Martínez Ajiaco, R. E. (1997). Aspectos preliminares de la biología pesquera del yaque, Leiarius marmoratus (Gill, 1870) (Pisces: Siluriformes: Pimelodidae) en la parte alta del río Meta Orinoquia Colombiana. *Boletín Científico INPA*, 75-87.

Romagosa, E., Narahara, M. Y., Borella, M. I., & Fenerich-Verani, N. (2001). Seleção e caracterização de fêmeas de matrinxã, Brycon cephalus, induzidas a reprodução. *Boletim do Instituto de Pesca*, *27*(2), 139-147.

Sahoo, S. K., Giri, S. S., Chandra, S., & Sahu, A. K. (2007). Spawning performance and egg quality of Asian catfish Clarias batrachus (Linn.) at various doses of human chorionic gonadotropin (HCG) injection and latency periods during spawning induction. *Aquaculture*, *266*(1), 289-292. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2007.02.006

Sahoo, S. K., Giri, S. S., & Sahu, A. K. (2005). Induced spawning of Asian catfish, Clarias batrachus (Linn.): effect of various latency periods and SGnRHa and domperidone doses on spawning performance and egg quality. *Aquaculture Research*, *36*(13), 1273-1278. https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2005.01317.x

Sumpter, J. P., Pottinger, T. G., Rand-Weaver, M., Campbell, P. M., 1994. The wide-ranging effects of stress in fish. In: Davey, K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S. (Eds.), Perspectives in Comparative Endocrinology. National Research Council of Canada, Ottawa, pp. 535–538.

Taranger, G. L., Carrillo, M., Schulz, R. W., Fontaine, P., Zanuy, S., Felip, A., … Hansen, T. (2010). Control of puberty in farmed fish. *General and Comparative Endocrinology*, *165*(3), 483-515. https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.05.004

Valbuena, R. D., & Cruz-Casallas, P. E. (2010). Reproducción inducida de Capaz (Pimelodus grosskopfii) con extracto de hipófisis de carpa: reporte preliminar, (2), 7.

Zohar, Y., 1988. Gonadotropin releasing hormone in spawning induction in teleosts: basic and applied considerations. In: Zohar, Y., Breton, B.ŽEds.., Reproduction in Fish: Basic and Applied Aspects in Endocrinology and Genetics. INRA Press, Paris, pp. 47–62.

Zohar, Y., 1989a. Fish reproduction: its physiology and artificial manipulation. In: Shilo, M., Sarig, S. (Eds.), Fish Culture in Warm Water Systems: Problems and Trends. CRC Press, Boca Raton, pp. 65–119.

Zohar, Y., 1989b. Endocrinology and fish farming: aspects in reproduction growth, and smoltification. Fish Physiol. Biochem. 7, 395–405.

Zohar, Y., & Mylonas, C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, *197*(1), 99-136. https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00584-1

CAPÍTULO 13

EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE HARINA OBTENIDA DE LA TORTA RESIDUAL DE SACHA INCHI (*Plukenetia Volubilis* L.) PARA SU POTENCIAL USO EN EL SECTOR AGROALIMENTARIO

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissão: 06/06/2022

Leidy Andrea Carreño Castaño
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0002-4374-5235

Cristian Giovanny Palencia Blanco
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-9912-1061

Mónica María Pacheco Valderrama
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0003-2054-4589

Ana Milena Salazar Beleño
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-7592-2550

Héctor Julio Paz Díaz
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0002-3278-7667

Dally Esperanza Gáfaro Álvarez
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0003-0251-2491

Miguel Arturo Lozada Valero
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-8719-7616

Sandra Milena Montesino Rincón
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0002-3437-6976

Olga Cecilia Alarcón Vesga
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0002-9689-5122

Seidy Julieth Prada Miranda
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0001-6213-5363

Adriana Patricia Casado Pérez
Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ, Escuela de Ingeniería Agroindustrial
Barrancabermeja, Santander, Colombia
https://orcid.org/0000-0003-4794-6461

OBS: el artículo fue Publicado en **Italian Journal of Food Science, supl. SIAL 2019: 6th Simposio Internacional Agroalimentario: IJFS; Pinerolo** (2019): 69-78. Fue publicado en el capítulo 3 del libro Agrárias: Pesquisa e Inovação nas Ciências que Alimentam o Mundo VI, Ed Artemis, 2021

RESUMEN: En el proceso de extracción del aceite de Sacha inchi *(Plukenetia volubilis* L.),

se obtiene una torta residual que es considerada como desecho. De esta torta es posible obtener una harina. Se realizó una caracterización fisicoquímica (humedad, cenizas, proteína, grasas, fibra, análisis de grupos funcionales por espectrofotometría infrarroja) y microbiológica (bacterias mesofílicas, coliformes fecales, mohos y levaduras, estafilococos, bacilos, salmonella) de la torta residual y a la harina de Sacha inchi, con el objetivo de validar su potencial aplicación como alimento en la dieta del ser humano. Para la torta residual se reportaron valores de contenido proteico de 46.04%, fibra 3.46%, grasa 16.03%, y del análisis microbiológico el recuento de bacterias mesofílicas fue de 40 ufc/g y el recuento de coliformes fecales fue menor de 3 mic/g. Así mismo, para la harina se reportaron valores de contenido proteico de 54.56%, fibra 4.79%, grasa 15.46%. En relación con el análisis microbiológico, el recuento de bacterias mesofílicas fue de 80 ufc/g y recuento de coliformes fecales fue menor de 3 mic/g. Por lo anterior, confirmado que la harina obtenida a partir de la torta residual presenta las características nutricionales adecuadas para elaborar productos de consumo humano.Se elaboró un producto alimenticio tipo brownie, 100% con harina de sacha inchi, Para el manejo del sabor astringente, se sometió a tratamientos térmicos de 60, 70 80, 90° C por tres horas a la harina y se encontró que la astringencia desaparecía al someterla a 80°C.
PALABRAS CLAVE: Sacha inchi, harina, caracterización, espectrofotometría, análisis microbiológico.

PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF FLOUR OBTAINED FROM SACHA INCHI (*Plukenetia Volubilis* L.) RESIDUAL CAKE FOR ITS POTENTIAL USE IN THE AGRI-FOOD SECTOR

ABSTRACT: In the process of extracting Sacha inchi oil (Plukenetia volubilis L.), a residual cake is obtained that is considered as waste. From this cake it is possible to obtain a flour. A physicochemical characterization (humidity, ash, protein, fat, fiber, analysis of functional groups by infrared spectrophotometry) and microbiological characterization (mesophilic bacteria, fecal coliforms, molds and yeasts, staphylococci, bacilli, salmonella) of the residual cake and flour of Sacha inchi, with the aim of validating its potential application as a food in the diet of the human being. For the residual cake, protein content values of 46.04%, fiber 3.46%, fat 16.03%, and microbiological analysis were reported. The mesophilic bacteria count was 40 cfu / g and the fecal coliform count was less than 3 mic / g. Likewise, for the flour, protein content values of 54.56%, fiber 4.79%, fat 15.46% were reported. In relation to the microbiological analysis, the mesophilic bacteria count was 80 cfu / g and the fecal coliform count was less than 3 mic / g. For the above, confirmed that the flour obtained from the residual cake, has the appropriate nutritional characteristics to produce products for human consumption. A food product type brownie, 100% sacha inchi flour was developed, For the management of astringent taste, it was subjected to thermal treatments of 60, 70, 80, 90 ° C for three hours to the flour and it was found that the astringency disappeared when subjected to 80 ° C.
KEYWORDS: Sacha inchi, flour, characterization, spectrophotometry, Microbiological analysis.

1 | INTRODUCCIÓN

Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L*) es una planta nativa de la Amazonía peruana, la cual posee una semilla oleaginosa con alto contenido de ácidos grasos linolénico (omega 3), linoleico (omega 6) y oleico (omega 9); en comparación con otras plantas como la soya, maní, algodón y girasol (Betancourth, 2013). Esta misma semilla contiene también aminoácidos esenciales (aquellos que el cuerpo no sintetiza por sí mismo y que son necesarios en la dieta) y cantidades importantes de minerales (Gutiérrez 2011), razón por la cual existe gran interés en su cultivo e industrialización (Gómez, 2005).

A partir de la semilla de Sacha Inchi se extrae aceite, el cual es empleado principalmente en la industria alimentaria y cosmética; y adicionalmente, se obtiene un subproducto conocido como torta residual que conserva cualidades nutricionales de la semilla (Inducam, 2017). En la actualidad se usa como materia prima en la elaboración de concentrados y en otros casos es catalogado como desecho (Mondragón, 2009; Reátegui, 2010).

Debido al crecimiento en la agroindustria oleoquímica, el extracto de aceite de Sacha Inchi ha sido de gran interés por sus propiedades químicas, por lo que se ha explotado en gran proporción. Esta situación ha traído como consecuencia un exceso en la generación de torta residual como subproducto, hecho que representaría una problemática al medio ambiente y a la sociedad en donde se desarrolla esta actividad.

Teniendo en cuenta que a partir de la torta residual se obtiene un tipo de harina que posee distintas propiedades organolépticas en función del método empleado para su obtención, en esta investigación se desea realizar una evaluación fisicoquímica y microbiológica de la torta residual y la harina obtenida, con el fin de conocer las características nutricionales y analizar su valor como producto potencial de consumo en la industria agroalimentaria.

2 | MATERIALES Y MÉTODOS

La caracterización fisicoquímica y microbiológica de la torta residual y la harina obtenida se realizó con los análisis de humedad, ceniza, proteína, grasa, fibra, grupos funcionales por espectrofotometría infrarroja y normas técnicas para análisis de pruebas microbiológicas. Por cada caracterización se realizaron 3 muestras.

La humedad se determinó por el método gravimétrico AOAC de 1990, mediante la cuantificación de la pérdida de masa al secar la muestra en un horno de secado Marca Memmert, modelo UM 100 a 105 °C. La cantidad de muestra empleada fue de 2000 g. Para determinar el porcentaje de humedad o Contenido Hídrico (CH) se utilizó la Ecuación (1) (Sánchez-Díaz y Aguirreolea 2000):

$$CH = \frac{m_i - m_s}{m_i} * 100 \qquad \text{(Ec. 1)}$$

donde CH es contenido hídrico, m_i masa inicial de la muestra y m_s masa de la muestra seca. Los resultados de la muestra se analizaron usando estadística descriptiva, para comprobar la exactitud de los datos.

Las cenizas se determinaron por diferencia de cenizas (AOAC 1990). Se emplearon dos muestras de 2000 g cada una en un crisol de porcelana. La calcinación se realizó en una mufla Marca Terrigeno, modelo L2 a 550 °C durante 2 horas. El cálculo de porcentaje de cenizas se encuentra en la ecuación (2):

$$\%\ de\ ceniza\ (C) = \frac{m_2 - m_1}{m} * 100 \qquad \text{(Ec. 2)}$$

donde C es porcentaje de cenizas, m masa de la muestra, m_1 masa del crisol vacío, m_2 masa del crisol con cenizas y CH, Contenido Hídrico.

El contenido de grasas se determinó por hidrólisis ácida y Soxhlet (AOAC 1990). Se adicionó una muestra de 5 g en un matraz Erlenmeyer de 250 ml, junto con 10 ml de Agua y 10 ml de HCl (NTC 668). Para la extracción de grasa se utilizaron 50 cm^3 de éter de petróleo anhidro durante 3 horas a baño maría, hasta verificar agotamiento de materia grasa. Para el método Soxhlet, la muestra hidrolizada y seca se incorporó en un matraz y se extrajo la grasa con éter de 6 a 8 horas, eliminando posteriormente el solvente en el evaporador rotatorio Marca IKA, modelo RV 10CS1. Para el cálculo de porcentaje de grasa, se emplea la ecuación (3):

$$\%Grasa\ cruda = \left(\frac{m_2 - m_1}{m}\right) * 100 \qquad \text{(Ec. 3)}$$

donde m es la masa de la muestra, m_1 masa del matraz vacío y m_2 masa del matraz con grasa. Los valores fueron promediados y expresados con 2 cifras significativas.

El contenido de proteína se determinó con el método Kjeldahl (AOAC 1984 y FAO 1986). La cantidad de muestra empleada fue de 1 g. El cálculo de proteína se encuentra en la ecuación (5):

$$N\ de\ la\ muestra\ (\%) = 100 * \left[\left(\frac{A * B}{C}\right) * 0.014\right] \qquad \text{(Ec. 4)}$$

$$\%Proteína\ cruda = N\ de\ la\ muestra(\%) * 6.25 \qquad \text{(Ec. 5)}$$

donde A es la cantidad de ácido clorhídrico (ml) usado en la titulación, B Normalidad del ácido y C masa de la muestra (g).

En el cálculo de la cantidad de fibra (AOAC 2006) se empleó 2 a 3 g de muestra desengrasada y seca. La ecuación (6) muestra la operación realizada.

$$\%fibra\ cruda = 100 * \left(\frac{A - B}{C}\right) \text{(Ec. 6)}$$

donde A es la masa del crisol con el residuo seco (g), B masa del crisol con la

ceniza (g) y C masa de la muestra (g). Todos los resultados de los cálculos anteriores se analizaron usando estadística descriptiva, para comprobar la exactitud de los datos. Para la determinación de grupo funcionales, se empleó una muestra sólida de 100 g mezclada con 1 g de KBr puro. El equipo utilizado fue Shimadzu modelo IR Affinitity-1, con una relación S/N 30000:1 y una resolución máxima de 0.5 cm^{-1}.

Finalmente, en la caracterización microbiológica se realizaron los análisis siguiendo las normas técnicas descritas en la tabla 1. Las muestras fueron sometidas al estudio de estabilidad en la cámara climática marca BINDER, modelo KBF 240.

Análisis	**Método**
Recuento de aerobios mesófilos	NTC 4519 (2009)
Recuento de coliformes totales	NTC 4458 (2007)
Recuento de coliformes fecales	NTC 4458 (2007)
Detección de Salmonella	NTC 4574 (2007)
Recuento de hongos filamentosos	NTC 4132 (1997)
Recuento de levaduras	NTC 4132 (1997)
Recuento de *Estafilococos aureus* coagulasa positiva	NTC 4779 (2007)
Recuento de *Bacillus cereus*	NTC 4679 (2006)
Aflatoxinas totales	IN-GS-3,404
Deoxinivalenol (DON)	IN-GS-3,404

Tabla 1. Normas técnicas para análisis e interpretación de pruebas microbiológicas y de micotoxinas en alimentos.

Fuente. Adaptado de ICONTEC, Normas para alimentos.

Para la obtención de harina a partir de la torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis L.),* se realizaron: acondicionamiento de materia prima, molienda, tamizado y empaque. En la figura 1, se presenta el flujograma para obtención de harina a partir de la torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) proveniente del proceso de extracción del aceite por prensado en expeller, suministrada por un proveedor de la ciudad de Medellín.

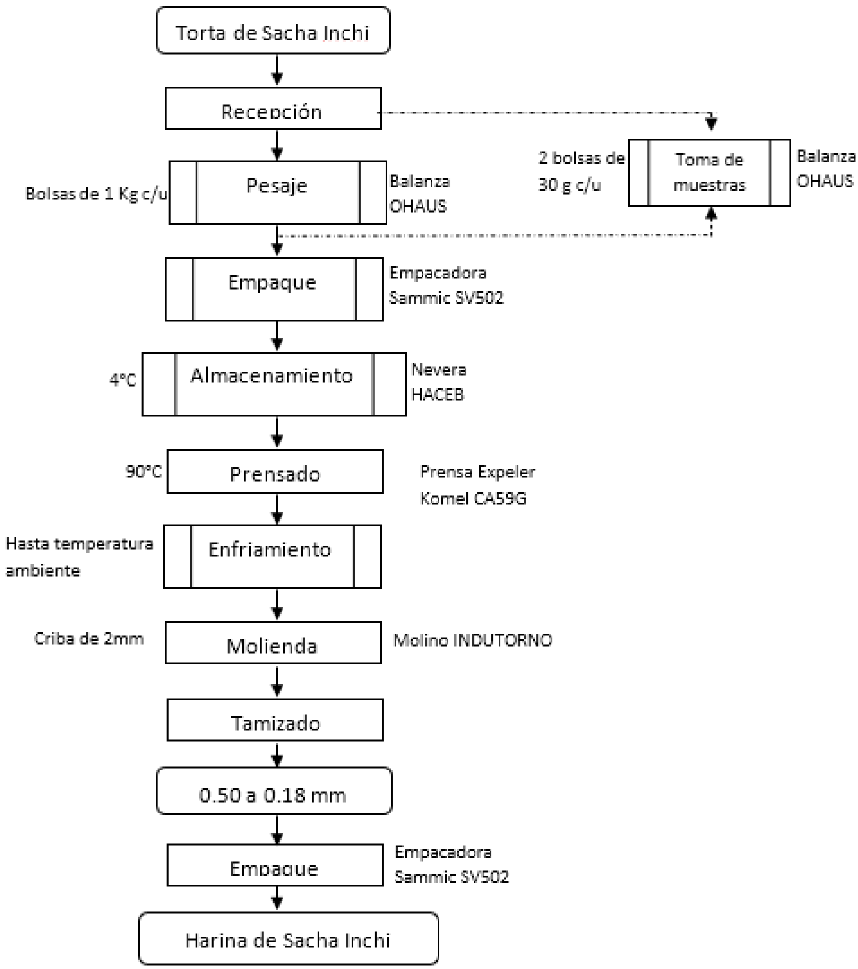


Figura 1. Flujograma del proceso de obtención de harina de Sacha inchi.

Fuente. Autores

Teniendo en cuenta la revisión bibliográfica, la caracterización de la materia prima y el producto deseado, se estableció que el proceso de obtención de harina de Sacha Inch a partir de la torta residual, debía constar de cuatro operaciones unitarias; acondicionamiento de materia prima, molienda, tamizado y empaque. Cabe aclarar que el proceso de acondicionamiento de la materia prima en prensa expeller no ejerce cambios fisicoquímicos en el producto obtenido. Lo más importante del método es que no altera la estructura fisicoquímica del producto y admite su conservación sin cadena de frío, ya que su bajo porcentaje de humedad permite obtener un producto con elevada estabilidad microbiológica. Se sometió a cuatro temperaturas, las cuales son 60, 70, 80 y 90° C, luego se tamizó en cernidores para obtener harina de Sacha Inchi. Asimismo, el hecho de no requerir refrigeración facilita su distribución y almacenamiento.

Para la obtención del producto tipo Brownie se utilizó harina obtenida en el proceso de la presente investigación. Para la preparación del Brownie, se inició precalentando en horno a 180°C, se mezcló la mantequilla con el azúcar hasta que quedó una crema homogénea, se adicionó a la harina de Sacha Inchi y el polvo de hornear. Luego de tener la mezcla totalmente integrada en el recipiente, se le adicionó la leche y la cocoa y por último, se adicionaron arándanos y semillas de chía al gusto. Se vertió la mezcla ya batida en los recipientes de aluminio, previamente engrasados con mantequilla y se llevó al horno; luego de 30 min de revisión se retiró del horno. Se llevó a cabo una prueba piloto o panel sensorial donde se realizó una degustación del producto con el cual se pretendió dar un valor agregado a la harina obtenida.

3 I RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La pertinencia de realizar este estudio tuvo su principal eje en la poca información sobre la caracterización de la harina obtenida a partir de la torta residual de Sacha inchi (*Plukenetia volubilis L*), cuyo conocimiento permitiría desarrollar investigaciones sobre las posibles aplicaciones que tendría esta harina en productos alimentarios. En relación con lo anterior se obtuvieron los siguientes resultados de la caracterización de la torta residual y la harina:

El valor medio de porcentaje de humedad para la torta residual fue de 6.02% ± 0.17% y para la harina obtenida de la torta, 3.56% ± 0.32%. Los resultados anteriores son acordes a la normatividad para productos secos, ya que se encuentran por debajo del 10%, esto permite concluir que dentro de la materia prima existen menores riesgos de contaminación microbiológica. Por otro lado, el menor valor de humedad en la harina es racional, teniendo en cuenta el proceso de prensado que se llevó a cabo para obtenerla.

El contenido de cenizas en la torta residual fue de 3.85% ± 0.07% y el de harina fue de 5.3% ± 0.25%, comparándolos con otras investigaciones sobre torta residual, 3.24% (Mondragón, 2009), 5.5% (Jagersberger, 2013) y 8.72% (Pascual y Mejía, 2000), se encuentra que siguen un comportamiento equivalente donde la variación de los valores puede ser debido a los contenidos de los suelos de cultivo, carga genética cultivada y capacidad de extraer nutrientes del suelo. El contenido de minerales en los alimentos debe ser aproximadamente 5%, por lo que los valores reportados en la investigación se encuentran en el rango admisible.

En la caracterización por contenido de grasas, la torta residual presentó un valor de 16.03% ± 4.35% y en la harina fue de 15.46%. Los valores obtenidos para la torta residual difieren de otras investigaciones reportadas con valores de 37.33% (Mondragón, 2009), 19.9% (Jagersberger, 2013) y 8.72% (Pascual y Mejía, 2000), lo que puede ser debido a la variedad y región de cultivo de la planta de Sacha Inchi, además de los tiempos y método de extracción empleado.

El contenido de proteína en la torta residual fue de 46.04%, valor que es menor en comparación con otros datos reportados de 59% (Ruiz, 2013), 59.13% (Pascual y Mejía, 2000) y 51.76 (Jagersberger, 2013). Por otro lado, la harina obtenida de la torta residual reportó un valor de contenido proteico de 54.56%. Es importante que sea un valor alto, debido a que es el nutriente más importante en la dieta, a su vez, permite controlar la calidad de alimento que se estaría adquiriendo o suministrando con el uso de esta harina.

Los valores de contenido de fibra se obtuvieron luego de desarrollar el método que simula la digestión de estos compuestos polisacáridos. Para la torta residual se reportó un valor de 3.46% y para la harina, 4.79%. Comparados con otras investigaciones 3.16% (Mondragón, 2009), 4.50% (Ruiz, 2013) y 7.30% (Pascual y Mejía, 2000); los valores de esta investigación no tienen variación significativa, exceptuando a Pascual y Mejía. El consumo regular de fibra contribuye en la flora intestinal, así como a reducir absorción de colesterol y glucosa. Los valores presentados en la harina indican un contenido aceptable para consumo como alimento. En la figura 2, se muestra la comparación de resultados entre la torta residual y la harina, donde se destaca que el contenido de proteína en la harina fue un 18% mayor que la torta residual. La determinación de grupos funcionales por espectrofotometría IR se realizó con el fin de confirmar el valor nutricional, teniendo en cuenta los grupos funcionales de los carbohidratos, lípidos y proteínas. En la figura 3, se muestra el espectro infrarrojo de la torta residual, en los que sobresalen los picos ubicados a 3305 cm^{1}, asociado a moléculas de agua, los picos a 3000, 2920 y 2826 cm^{-1}, corresponden a la vibración de estiramiento asimétrico de los enlaces CH_3, CH_2 y CH, relacionados con lípidos y carbohidratos.

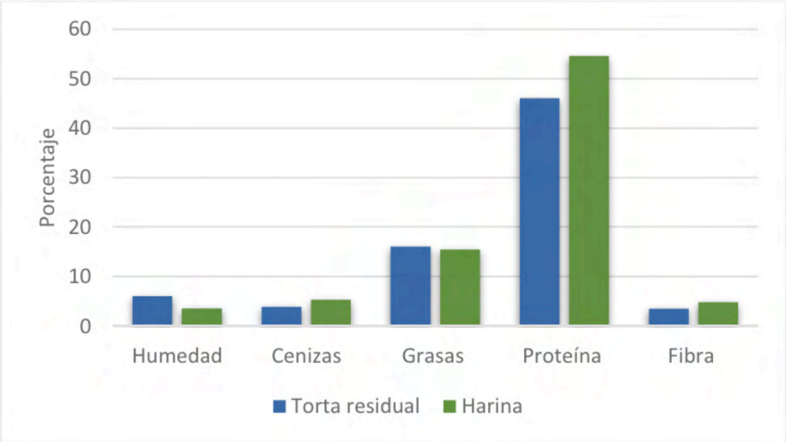


Figura 2. Comparación caracterización torta residual y harina de Sacha Inchi

Fuente. Autores

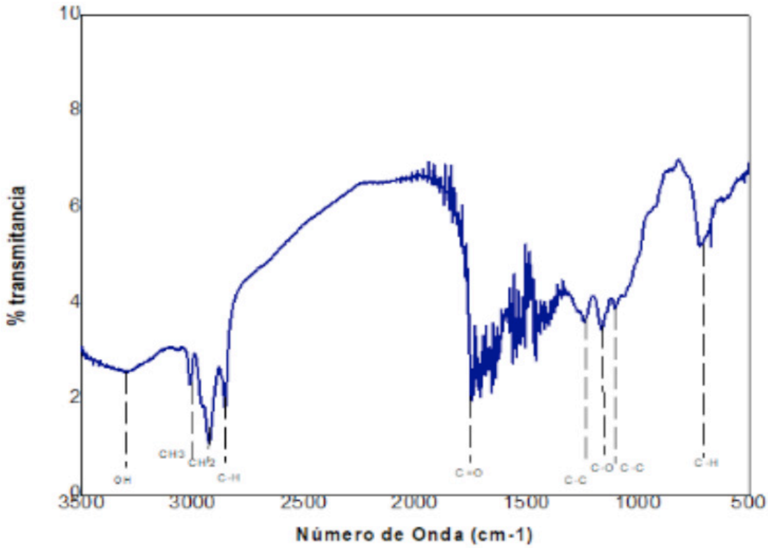


Figura 3. Resultados espectro infrarrojo de la torta residual de Sacha Inchi

Fuente. Autores.

El pico con número de onda 1743 cm^{-1} se encuentra asociado con la vibración de estiramiento del enlace C=O relacionado con proteínas. Se observaron tres picos en la región de 1230, 1170 y 1100 cm^{-1} que se asocian con la vibración de estiramiento del enlace C-O, C-C y C-O que indica la presencia de carbohidratos. El pico 723 cm^{-1} está asociado a la vibración de balanceo del enlace C-H, indicando la presencia de carbohidratos. Estos resultados permiten dilucidar que la torta residual posee las especificaciones adecuadas para ser la base de un alimento de alto valor nutricional debido a su contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos.

En la figura 4, se muestra el espectro infrarrojo de la harina de Sacha Inchi donde se observaron tres picos a 3000, 2920 y 2826 cm^{-1}, asociados con la vibración de estiramiento asimétrico de los enlaces CH_3, CH_2 y CH relacionados con lípidos y carbohidratos. Como se mencionó anteriormente, el pico con número de onda 1743 cm^{-1} se encuentra asociado con la vibración de estiramiento del enlace C=O relacionado con proteínas.

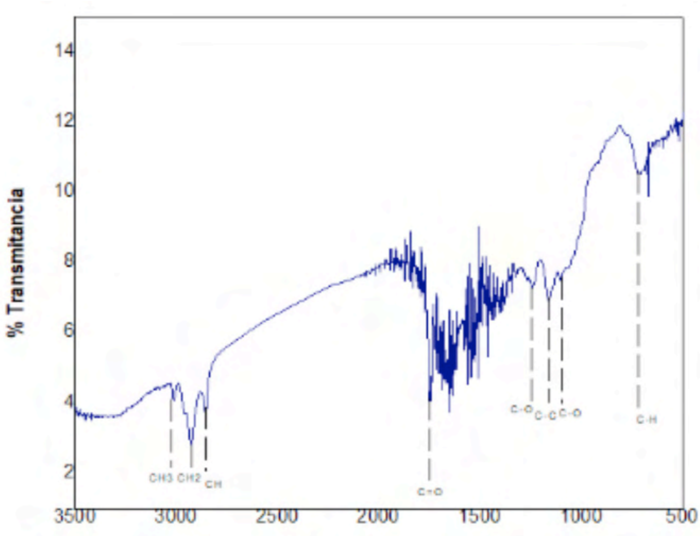


Figura 4. Resultados espectro infrarrojo de la harina de Sacha inchi

Fuente. Autores.

También se observaron tres picos en la región de 1230, 1170 y 1100 cm^{-1} que se asocian con la vibración de estiramiento del enlace C-O, C-C y C-O que indica la presencia de carbohidratos mencionados anteriormente para la torta residual. El pico 723 cm^{-1} está asociado a la vibración de balanceo del enlace C-H, indicando la presencia de carbohidratos. Se observa que los espectros de la torta residual y de la harina son muy similares, lo que confirma que la harina obtenida de esta torta residual tiene potencial aplicación como alimento debido a su valor nutricional representado en el contenido de carbohidratos, proteínas y lípidos.

Los resultados de la caracterización microbiológica para la torta residual y la harina se muestran en la Tabla 2. Entre los datos reportados para la torta residual, se hallaron 40 ufc*g^{-1} de bacterias mesofílicas, valor entre el rango aceptable. Respecto a los coliformes fecales, Estafilococo coagulasa, *Bacilus cereus* y mohos y levaduras se encontraron por debajo de los límites inferiores normales aceptados. Para el caso de la harina, se hallaron 80 ufc*g^{-1} de bacterias mesofílicas, al igual que la torta, los valores están en el rango aceptable, por lo que se confirma su potencial para su aplicación agroalimentaria.

Parámetro	**Resultado**	**Límite inferior**	**Límite superior**	**Unidad**	**Técnica**
Torta residual					
Bacterias mesofílicas	40	menos de 10	150000	ucf/g	Recuento en placa
Coliformes fecales	menos de 3	menos de 3	menos de 3	mic/g	NMP
***Estafilococo aureus* Coagulasa positiva**	menos de 100	menos de 100	100	ucf/g	Recuento en placa BP
Bacilus cereus	menos de 100	menos de 100	1000	ucf/g	Recuento en placa Mossel
Mohos y levaduras	menos de 10	menos de 10	1500	ucf/g	Recuento en placa YGC
Harina					
Bacterias mesofílicas	80	menos de 10	300000	ucf/g	Recuento en placa
Coliformes fecales	menos de 3	menos de 3	menos de 3	mic/g	NMP
***Estafilococos aureus* Coagulasa positiva**	menos de 100	menos de 100	2000	ucf/g	Recuento en placa BP
Bacilus cereus	menos de 100	menos de 100	1000	ucf/g	Recuento en placa Mossel
Mohos y levaduras	230	menos de 10	100	ucf/g	Recuento en placa YGC
Salmonella	negativo	negativo	negativo	ucf/25g	Salmosyst

Tabla 2. Resultado análisis microbiológico de la torta residual y harina de Sacha inchi

Fuente. Autores.

La transformación de torta residual a harina se inició con la molienda, posteriormente es llevado a secado, se manejó cuatro temperaturas, las cuales son 60, 70, 80 y 90° C, luego se tamizó en cernidores para obtener harina de Sacha Inchi. Cuando la harina fue sometida a varias temperaturas, se modificaron algunas características organolépticas como olor, color y sabor. En el caso del olor y el sabor a mayor temperatura menos olor y sabor tenía, siendo favorable para el consumo humano. En el caso del color la relación es directamente proporcional a mayor temperatura mayor color, tornándose la harina más oscura como se evidencia en la figura 5.

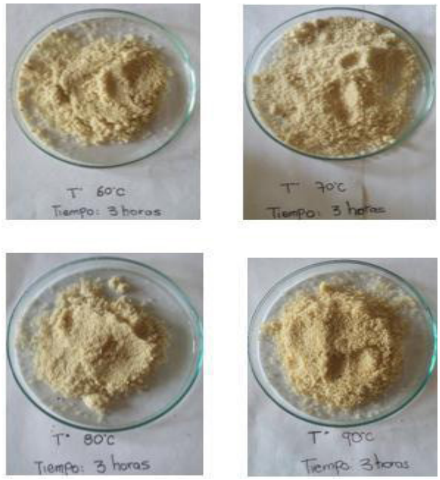


Figura 5. Harina sometida a cuatro niveles temperatura para mejorar las características organolépticas. A) 60°C; B) 70°C; C) 80°C y D) 90°C.

Fuente. Autoras

La harina utilizada para la elaboración del Brownie se sometió a 80° C por tres horas para eliminar características indeseables, como la astringencia y el aroma; como técnica de conservación agroindustrial y de mejoramiento de la harina para consumo humano.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de la evaluación fisicoquímica permiten confirmar que la torta residual y la harina de Sacha Inchi, poseen un alto valor nutritivo y no tóxico para ser utilizado en formulaciones de mezclas nutritivas para productos alimentarios de consumo humano, revelando un valor agregado aplicable a este subproducto de la industria oleoquímica.

Las pruebas microbiológicas tanto en la torta residual como en la harina indicaron que son aptas para el consumo humano, sin ningún riesgo para la salud; especialmente estas características microbiológicas se mantienen debido a que la humedad en ambos casos se mantiene baja, lo cual impide la aparición de hongos saprofitos y patógenos.

Los resultados en el proceso de tratamiento térmico a la harina para conservación o almacenamiento mostraron que a menor temperatura (60°C) el color se mantiene estable, pero a medida que aumenta la temperatura en el tratamiento de la harina, esta tiende a cambiar, tomando una tonalidad oscura.

El aroma presenta una relación inversamente proporcional con la temperatura, a menor temperatura prácticamente no desaparece, pero al elevarla, el aroma en las muestras va cambiando hasta casi desaparecer a 90°C.

El someter la harina a tratamientos térmicos, permitió determinar que tratamiento

mejoraba las características organolépticas y recomendar un tratamiento para el manejo de la harina a nivel agroindustrial.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Instituto Universitario de la Paz-UNIPAZ por su apoyo y disponibilidad del Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial (LBA) para el desarrollo de algunas pruebas de laboratorio, a la esp. Lía Zamara Mora Vergara por su apoyo en las pruebas fisicoquímicas.

REFERENCIAS

Association of Official Analytical Chemist [AOAC]. (1984). Official Methods of Analysis of AOAC. 13th edition. Washington, D.C.: AOAC International.

Association of Official Analytical Chemist [AOAC]. (1990). Official Methods of Analysis of AOAC 925.10:1990. 15th edition. Washington, D.C.: AOAC International.

Association of Official Analytical Chemist [AOAC]. (2006). Official Methods of Analysis of AOAC 75:372-374. 18th edition. Washington, D.C.: AOAC International.

Betancourth C. F. (2013). Aprovechamiento de la torta residual de sacha inchi (Plukenetia volubilis L) mediante extracción por solventes de su aceite [Tesis de Maestría]. Manizales: Universidad de Manizales Facultad de Ciencias Contables Económicas y Administrativas. P 32. Disponible en: http://ridum.umanizales.edu.co:8080/xmlui/bitstream/handle/6789/970/Betancourth_L%C3%B3pez_Cristhian_Fernando_2013.pdf?sequence=2.

Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO]. (1986). FAO Food and Nutrition Paper 14/7. Roma.

Gómez J. E. (2005). Monografía y cultivo de SACHA INCHI (Plunketia volubilis L.): Oleaginosa promisoria para la diversificación productiva en el trópico. Florencia, Colombia: PRODUMEDIOS.

Gutiérrez L. F., Rosada L. M., y Jiménez A. (2011). Composición química de las semillas de " Sacha Inchi" (Plukenetia volubilis L) y características de su fracción lipídica. Grasas y aceites. 62(1). p 76-83. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3404093.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2002). NTC 668 Alimentos y materias primas. Determinación de los contenidos de grasa y fibra cruda. Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2009). NTC 4519 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30 °C. Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2007). NTC 4458 Microbiología de alimentos y de alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de coliformes o Escherichia coli o ambos. Técnica de recuento de colonias utilizando medios fluorogénicos o cromogénicos. Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2007). NTC 4574 Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para la detección de Salmonella spp. Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (1997). NTC 4132 Microbiología. Guía general para el recuento de mohos y levaduras. Técnica de recuento de colonias a 25 °C. Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2007). NTC 4779 Microbiología de alimentos y alimentos para animales. Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (Staphylococcus aureus y otras especies). Bogotá: ICONTEC.

Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. (2006) [ICONTEC]. NTC 4679 Microbiología. Método horizontal para el recuento de bacillus cereus técnica de recuento de colonias. Bogotá: ICONTEC.

INDUCAM. (2017). INDUCAM Diseño, Construcción y automatización de maquinaria para la extracción de aceites vegetales: Prensa LIBC 3. Disponible en: http://www.inducam.com.co/prensa-libc-3.

Jagersberger, J. (2013). Development of novel products on basis of Sacha Inchi – Use of press cakes and hulls. Berghofer: Universitat Wien. Disponible en: http://othes.univie.ac.at/25424/1/2013-01-22_0603329.pdf.

Mondragón, I. G. (2009). Estudio farmacognóstico y bromatológico de los residuos industriales de la extracción del aceite de Plukenetia volubilis L. (Sacha inchi). Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/1502/1/Mondragon_ti.pdf.

Pascual G., Mejía M. (2000). Extracción y caracterización del aceite de sacha inchi. Anales Científicos UNALM, 42, p 146-160. Disponible en: http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/web/anales/pdf_anales/MasterAnales-2000-Volumen%20XLII.pdf.

Reátegui V., Flores J., Ramírez, J., Yalta R., Manrique J. A., D'Azevedo G., Pinedo J., Bardales J., Machuca G., Rengifo O., Rengifo, D. y D'Azevedo, A. (2010). Evaluación de la torta de sacha inchi (Plukenetia volubilis) y su uso como fuente alternativa y proteica en la alimentación de pollos de engorde y gallinas de postura en Zúngaro Cocha-UNAP. Disponible en: www.unapiquitos.edu.pe/.../articulo%20cientifico-dra%20victoria%20r.

Ruiz C., Díaz C., Anaya J., Rojas R. (2013). Análisis proximal, antinutrientes, perfil de ácidos grasos y de aminoácidos de semillas y tortas de 2 especies de Sacha inchi (Plukenetia volubilis y Plukenetia huayllabambana. Revista de la Sociedad Quimica del Perú, 79(1). p 29-36.

Sánchez-Díaz M., Aguirreolea J. (2000). El agua en la planta. En: Fundamentos de fisiología vegetal. Mc Graw Hill Interamericana. Madrid, España. p 18.

CAPÍTULO 14

IDENTIFICACION BIOQUÍMICA Y MOLECULAR DE BACTERIAS DE IMPORTANCIA EN SUELOS AGRÍCOLAS

Data de aceite: 19/07/2022

Martha Lidya Salgado-Siclán
Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca de Lerdo, México
0000-0002-7263-0621

Guadalupe Milagros Muzquiz Aguilar
Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca de Lerdo, México.

Ma. Magdalena Salgado- Siclán
Colegio de Postgraduados Instituto de Fitosanidad. Montecillos, México

Ana Tarín Gutiérrez-Ibañez
Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca de Lerdo, México
0000-0002-3419-1445

José Francisco Ramírez-Dávila
Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca de Lerdo, México
0000-0002-8625-4655

Martín Rubí Arriaga
Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Ciencias Agrícolas. Toluca de Lerdo, México
0000-0001-7547-5017

RESUMEN: Las bacterias habitantes de la rizosfera son reconocidas en diversas actividades como promotoras del crecimiento vegetal, participación en los ciclos biogeoquímicos, mejora en la salud de la planta, participan en la resistencia a fitopatógenos y calidad estructural del suelo. Se identificaron fenotípica y molecularmente tres aislamientos de bacterias del suelo de la rizósfera. Las pruebas bioquímicas se basaron en reacciones bioquímicas y siembras en medios diferenciales, las pruebas moleculares emplearon la técnica de PCR, utilizando el gen ribosomal 16S. Los oligonucleótidos utilizados para *Azotobacter chroococcum* fueron Y1/Y3, para *Bacillus megaterium* 27F/1492R y para *Bacillus subtilis* FD1/RD1. Los productos de PCR fueron visualizados en un gel de agarosa al 1%, secuenciados, editados y comparados en la base de datos del NCBI. Por otra parte, los árboles filogenéticos fueron creados con los programas bioinformáticos BioEdit y Past. En la caracterización bioquímica las pruebas realizadas correspondieron a las especies de las bacterias identificadas. La comparación de las secuencias obtenidas mediante BLAST presentaron 99% de identidad para *A. chroococcum*, *B. subtilis* 88% y *B.megaterium* 99%. Los árboles filogenéticos diseñados con el criterio de máxima probabilidad, indicó un grupo bien definido para cada especie identificada.

PALABRAS CLAVE: Pruebas bioquímicas, PCR, *A.chroococcum, B.subtilis, B.megaterium*

INTRODUCCIÓN

En el suelo se encuentra una inmensa diversidad microbiológica que intervienen en los procesos de transformación de la materia

orgánica de los suelos, mantienen la fertilidad y participan activamente en la degradación orgánica, convirtiéndola en humus, retornando al suelo y a la atmósfera las sustancias transformadas. (Hernández y Escalona, 2003; Acuña, *et. al*., 2006). Los hongos y las bacterias son los más abundantes de los microorganismos del suelo, en esencia las bacterias son los agentes más cuantiosos en los suelos debido a que realizan la mayor parte de los cambios biológicos y bioquímicos en el ambiente (Hernández y Escalona, 2003). Existe una amplia gama de interrelación entre las especies de microorganismos en el ecosistema, específicamente en la rizósfera de las plantas, sitio donde se establecen grupos de bacterias, como fijadoras de nitrógeno, solubilizadoras de fosfatos, promotores de crecimiento, antagonistas, entre otros. En el proceso de interacción de los habitantes del suelo éstos compiten por espacio y nutrientes, lo que incide en la relación suelo-planta-microorganismo-ambiente, y así, repercuten directamente en el desarrollo de las especies vegetales y fertilidad del suelo (Cano, 2011; Acuña, *et. al*., 2006). Existen bacterias de gran interés agrícola como *Bacillus* spp*, Azotobacter* spp, *Rhizobium* spp, que son las responsables de la fijación de nitrógeno, solubilizadoras de fosfato, promotoras de crecimiento vegetal y antibiosis entre otras actividades Wolfgang (1986); Hernández y Escalona, 2003; Yongfeng (2007). Estos procariontes desempeñan un papel sustancial en el suelo, al ser responsables de la transformación de algunos elementos, permitiendo que los productos orgánicos sean mineralizados y los nutrientes estén disponibles para las plantas e incrementen la fertilidad del suelo (Hernández y Escalona, 2003). Un grupo muy particular son las bacterias diazótrofas que fijan el nitrógeno como *Azotobacter* que utilizan compuestos nitrogenados como fuentes de energía y lo transforman en nitritos así como a las bacterias que oxidan a los nitritos transformándolos en nitratos (Hernández y Escalona, 2003; Young and Park, 2007). Por su parte *Bacillus* spp., tiene una colonización considerable en la zona de la rizósfera, actúa como solubilizadora de fosfato, sintetiza fitohormonas y posee gran capacidad de controlar hongos fitopatógenos, además de participar en la modificación estructural de la raíz (Cárdenas *et al.,* 2007; Cuervo, 2010) (ICA, 2004). Actualmente la participación de la actividad microbiana en el manejo agrícola sustentable es altamente reconocida como biofertilizantes, biodegradadores y biocontroladores del suelo (Cano, 2011, Pedraza *et a.l,* 2020).

Para comprender su funcionamiento en sus nichos específicos, es esencial identificar y cuantificar cada uno de los miembros que conforman estas comunidades (Ferrera, 2007). El conocimiento de la vida microbiana y el papel que juegan en estos ambientes ha sido poco explorado debido a la gran complejidad microbiana existente (Hernández y Escalona, 2003; Malik *et al*., 2013). La identificación de procariontes con pruebas bioquímicas son el reflejo de la actividad fisiológica, metabólica y fenotípica bacteriana, producto de la expresión genética, lo que conlleva a sumar herramientas moleculares basadas en las técnicas de Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que confirmen su identificación, convirtiendo esta técnica en una pieza fundamental en el laboratorio para identificar

especies y diversidad microbiana con potencial de uso en la agricultura sustentable (Holt *et al.,* 2000; Mac Faddin, 2003; Necochea y Canul, 2004; Vessey, 2003).

En la taxonomía bacteriana, el análisis de la secuencia génica de genes estables presente en todas las bacterias como el ARNr 16S (gen codificante ADN 16S) es la herramienta más ampliamente utilizada que permite establecer relaciones filogenéticas entre bacterias, además de tener un tamaño adecuado para realizar su análisis. De distribución universal y componente crítico en la función celular, el ARNr 16S actúa como un cronómetro molecular al presentar un alto grado de conservación, lo que permite su utilización para la identificación bacteriana o la asignación de género y especie (Rodicio y Mendoza, 2004).

El objetivo de este trabajo fue identificar bioquímica y molecularmente los géneros de *Azotobacter* sp*. y Bacillus* spp. originarias de suelos agrícolas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención del material biológico

Las cepas bacterianas se obtuvieron del cepario del laboratorio de Fitopatología, del Centro de Investigación y Estudios Avanzados en Fitomejoramiento, de la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad Autónoma del Estado de México, colectadas en verano 2014 de suelos agrícolas del Estado de México.

Crecimiento de las bacterias

El crecimiento de las bacterias fue realizado en Medio de cultivo Agar Nutritivo (AN), a partir de las colonias obtenidas de un aislamiento primario, se incubaron por 2 días a 25°C y fue descrito su crecimiento de colonia para su uso posterior.

Identificación bioquímica

A cada bacteria aislada, se le realizaron las pruebas bioquímicas-fisiológicas básicas, como fueron Tinción de Gram, prueba de óxido/fermentativa de azúcar, hidrólisis de almidón, oxidasa, la prueba de hierro- triple azúcar TSI, rango de crecimiento a 45°y 65°C, prueba de KOH, tinción de endosporas, motilidad, solubilización de fosfato, reducción de nitratos. Todas las pruebas se realizaron por duplicado (Schaad, 2001; Mac Faddin, 2003 y Holt *et al*., 2000).

Extracción, cuantificación, pureza e integridad del ADN genómico

Para la extracción de ADN genómico, se utilizó el reactivo Plant DNAzol® de Invitrogen a partir de 700μL cultivo bacteriano crecido en caldo nutritivo de 24 h a 27°C. El ADN obtenido fue suspendido en 30μL de agua libre de nucleasas, y almacenado a -20°C hasta su uso. La cuantificación de ADN de doble cadena (ng/μL) y la pureza de ADN se utilizó un biofotómetro Eppendorf modelo BioPhotometer. La medición se realizó tomando

1μL de ADN y 49μL de agua grado molecular (Valadez-Kahl, 2000). La determinación de la integridad se hizo a través de electroforesis en agarosa al 1% (p/v) en buffer TAE 1X previamente teñido con bromuro de etidio, intervenido por una corriente de 60V. Para visualizar la integridad del ADN se utilizó el transluminador GVM20 Syngene® UK y se documentó con el software Gen and Tool®.

Amplificación del gen ADNr16S con iniciadores Y1 - Y3, 27F - 1492R y FD1 - RD1

En la identificación molecular de las bacterias en estudio, se realizó la amplificación del gen ADNr 16S por PCR punto final. Se emplearon los iniciadores universales Y1 - Y3 (5'-TGGCTCAGAACGAACGCTGGCGGC-3´ / 5´-TACCTTGTTACGACTTCACCCCAGTC-3´) para *Azotobacter,* de aproximadamente una región de 1500 pb, recomendados para bacterias diazótrofas (Magalháes *et al.,* 2001). Para *B. megaterium*, se emplearon los iniciadores 27F-1492R (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3´/5´-GGTTACCTTGTTACGACTT-3´) recomendados por Liu *et.al.*, (2004) y para *B. subtilis*, se utilizaron los cebadores universales de eubacterias, FD1-RD1 (5'-CCGAATTCGTCGACAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'/ 5'-CCCGGGATCCAAGCTTAAGGAGGTGATCCAGCC-3') reconocidos por Kumar *et.al.*, (2012), que amplifican un fragmento de 1446 pb. Cada amplificación se realizó por separado, utilizando el kit comercial Kapa Biosystems®, siguiendo las recomendaciones del fabricante. La amplificacion del gen 16S se llevo a cabo en un termociclador PT-100 JR, estableciendo las condiciones particulares para cada bacteria en estudio.

Las condiciones de PCR usadas para *Azotobacter* fueron un alineamiento a 93°C/2 min; 35 ciclos de 93°C/45 seg, 68°C/45 seg, 72°C/2 min; una extension final de 72°C/10 min. Para *Bacillus subtilis* fueron: 95°C/5 min; 40 ciclos de 95°C/30 seg, 69°C/30 seg, 72°C/30 seg; una extension final de 72°C/10 min. Mientras que para *Bacillus megaterium*: 95°C/5 min; 35 ciclos de 95°C/30 seg, 55°C/30 seg, 72°C/90seg; una extension final de 72°C/10 min. Los productos se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1.0%. El marcador de peso molecular empleado como referencia fue de 1Kb (Thermo). La purificación de los productos de PCR se realizó siguiendo las especificaciones del Kit DNA Clean & Concentrador de la marca Zymo Reserach®. Los productos purificados, se enviaron a secuenciar al laboratorio de Bioquímica Molecular de la Unidad de Prototipos FES-Iztacala-Universidad Nacional Autónoma de México (secuenciador Modelo 3130xl Genetic analyzer).

Análisis del gen 16S rDNA

Se realizó una comparación en la base de datos en GenBank y se construyeron los árboles filogenéticos con las secuencias obtenidas. La búsqueda de similitud de secuencias se realizó usando la herramienta BLAST del Cetro Nacional de Información Biotecnológica (http://www.ncbi.nlm. nih.gov/BLAST). El alineamiento múltiple de secuencias nucleotídicas

se ejecutó con el programa Clustal W y se crearon los árboles filogenéticos con el software Past, con un valor de 100 boostrap.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación bioquímica de las colonias bacterianas

Las colonias de *A. chroococcum* fueron de color crema irregular, presentando colonias grandes, brillantes y mucoides. Para *Bacillus* spp., las colonias fueron de color crema a blanco, opacas, con bordes irregulares y de forma pequeña a grandes.

La identificación bioquímica se realizó utilizando las técnicas convencionales para identificación de los géneros bacterianos. Mismas que se muestran en el cuadro 1.

Pruebas Bioquímicas	*B. subtilis* (Schaad, 2001)	Bacteria estudiada *B. subtilis*	*B. megaterium* (Schaad, 2001)	Bacteria estudiada *B. subtilis*	*A. chroococcum (Holt, 2000)*	Bacteria en estudio *A. chroococcum*
Tinción de Gram	+	+	+	+	-	-
Motilidad	+	+	+	+	+	+
Tinción de endosporas	+ central	+ central	+ central	+ central y + Subterminal	N/A	N/A
Crecimiento a 45°C	+	+	+	+	N/A	N/A
Crecimiento a 65°C	+	+	+	+	N/A	N/A
Citrato	+	-	+	-	N/A	N/A
Hugh & Leifson	-	-	-	-	N/A	N/A
TSI	+	+	+	+	N/A	N/A
Solubilización de fosfato	+	+	+	+	+	+
Hidrolisis de almidón	+	+	+	+	+	-
Reducción de nitratos	N/A	N/A	N/A	N/A	+	+
Oxidasa	N/A	N/A	N/A	N/A	+	+

(+ = positivo; - = negativo; N/A no aplica a la prueba).

Cuadro 1. Pruebas bioquímicas realizadas a las bacterias en estudio

Con respecto a la prueba de tinción de Gram, se realizó para las bacterias *B. subtilis, B. megaterium y A. chroococcum.* Se observó el tamaño y forma de las células en el frotis teñido con los colorantes usados en ésta técnica. La diferencia entre *B. subtilis* y *B. megaterium* se detectó que la célula es más grande en esta última, siendo las dos Gram positivas por su coloración morada o azul, contrariamente *A. chroococcum*, mostró ser una una Gram negativa, por la coloración rosa-roja presente en el frotis.

Por otro lado, en la prueba de solubilización de fosfato evaluado a las 48 horas de

la siembra en el medio de cultivo, se observó a *B. megaterium* tiende a solubilizar más rápido dejando ver un halo claro banco-amarillo alrededor de la colonia, Según Mac Faddin (2003).

En relación a la prueba de hidrólisis de almidón, se observó como *B. megaterium* hidrolizó el almidón más rápido y con crecimiento abundante, mientras que *B. subtillis*, su crecimiento fue menor y lento. Con respecto a la prueba de reducción de nitratos para la bacteria *A. chroococcum* los resultados indicaron una coloración ligeramente color bugambilia y asi se indicó que reduce nitratos. En la prueba bioquímica de triple azúcar de hierro (TSI), la lectura de esta prueba indicó que las dos bacterias, tanto *B. subtilis y B. megaterium* fermentan glucosa, lactosa y/o sacarosa, subrayando que tiene una profundidad y superficie ácida, pico y fondo amarillo. Estas bacterias, no mostraron presencia de gas con burbujas, ni ruptura del medio de cultivo, ni producción de gas H_2S, al incubarse a 35 °C por 24 horas. Lo cual concuerda con lo reportado por Mac Faddin (2003). En la prueba de motilidad con medio SIM se dejó incubar a las bacterias por 18 horas a 37°C. Las cuales presentaron movimiento y turbidez más haya en la línea de siembra. Las bacterias *B. subtilis, B. megaterium* y *A. chroococcum* fueron positivas a esta bioquímica, lo cual concuerda Holt *et al*., (2000) que estos géneros-especies presentan flagelos peritricos.

En la prueba bioquímica de tinción de endosporas con el auxilio del microscopio óptico y con un aumento de 100 X, se observó la presencia de las endosporas con una coloración verde esmeralda, mientras que la célula bacteriana tomó una tinción roja. En *B. subtilis,* la endospora se encontró en la posición central, para B. *megaterium* subterminal y terminal, siendo necesario un cultivo de 24 h para que se lleve a cabo la esporulación de *B. subtilis*, mientras que para *B. megaterium* fue necesario mayor edad del cultivo.

Extracción de DNA

El método para la extracción de DNA bacteriano con el reactivo Plant DNAzol® resultó efectivo debido a la pureza y altas concentraciones del DNA. Fue fundamental obtener una pastilla de ADN a partir de un cultivo joven de 24 h de edad, ya que extracción de bacterias de más edad mostró menor calidad en el ADN, tal vez por la presencia de metabolitos existentes como lipo-polisácaridos.

Amplificación del ADNr 16S con los primer Y1-Y3, 27F-1492R y FD1-RD1

La amplificación parcial del gen 16S de las bacterias, mediante PCR con los oligonucleótidos universales mostraron el fragmento de tamaño esperado para cada bacteria en estudio. Así los iniciadores Y1/Y3 para *A. chroococcum* dieron un amplicón del tamaño esperado de 1500 pb (Jiménez, 2007); los iniciadores 27F/1492R para *B. megaterium* mostraron un fragmento de 1287 pb como lo señala Liu (2014). Finalmente, los iniciadores FD1/RD1, para *B. subtilis* amplificaron un fragmento de 1446 pb (Kumar, 2012) Figura 1.

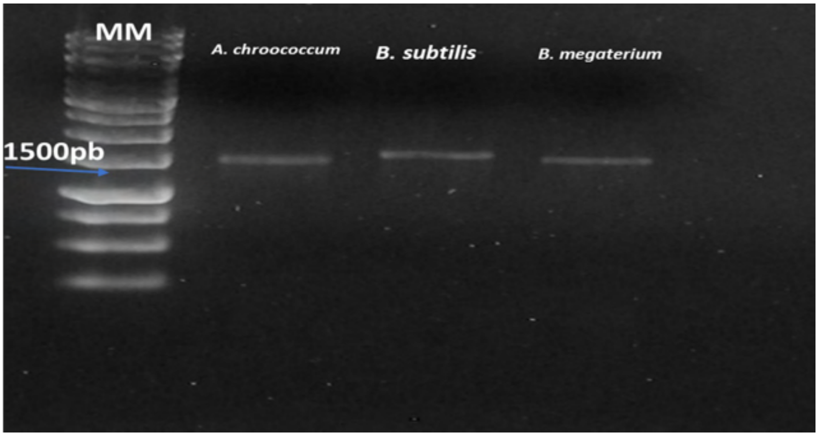


Figura 1. Productos de PCR de región 16S rDNA de las bacterias estudiadas. Carril 1 Marcador de Peso molecular 1kb (MM), Carril 2: *A. chroococcum*. Carril 3: *B. subtilis*. Carril 4: *B. megaterium*. Gel de agarosa al 1%.

Análisis y filogenia de las bacterias

Los microrganismos pueden ser identificados por sus rasgos fenotípicos y características genotípicas. La variación presente en diferentes especies, cuando es baja indica de un parentesco. Esto permite establecer relaciones evolutivas históricas, denominadas relaciones filogenéticas y representarlas en un cladograma o árbol filogenético (Rodicio- Mendoza 2004).

La comparación de secuencias para establecer relaciones filogenéticas de los microorganismos en estudio se estableció utilizando el banco de genes NCBI (siglas en inglés (National Center for Biotechnology Information) (www.ncbi.nlm.nih.gov) y las secuencias obtenidas de los productos amplificados se usó el programa Bioedit, para comparar secuencias de interés, del mismo gen en estudio. Se hicieron múltiples alineamientos con el programa Clustal W, con diferentes secuencias sustraídas del NCBI. Lo anterior con la finalidad de crear una matriz filogenética que incluyó las secuencias del presente estudio. Finalmente, la formación de los árboles se realizó de manera parsimonia, heurística y con 100% de bootstrap, para generar el cladograma de cada especie. Los árboles filogenéticos creados por comparación de secuencias permitieron establecer la identificación de las bacterias en estudio y su relación con otras reportadas en el banco de genes. Las bacterias *A. chroococcum, B. subtilis y B. megaterium,* mostraron un alto valor de identidad.

El análisis filogenético con secuencias de referencia del Gen Bank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/), permitieron realizar los árboles filogenéticos y hacer posible una inferencia taxonómica a nivel especie, utilizando la región 16S rDNA. La bacteria en estudio *A. chroococcum* mostró 99% de identidad con las accesiones EU274299, JF700513 y EF100151, y se utilizó al género *Beijerinckia* spp (NR_116306) como grupo

externo (Figura 2).

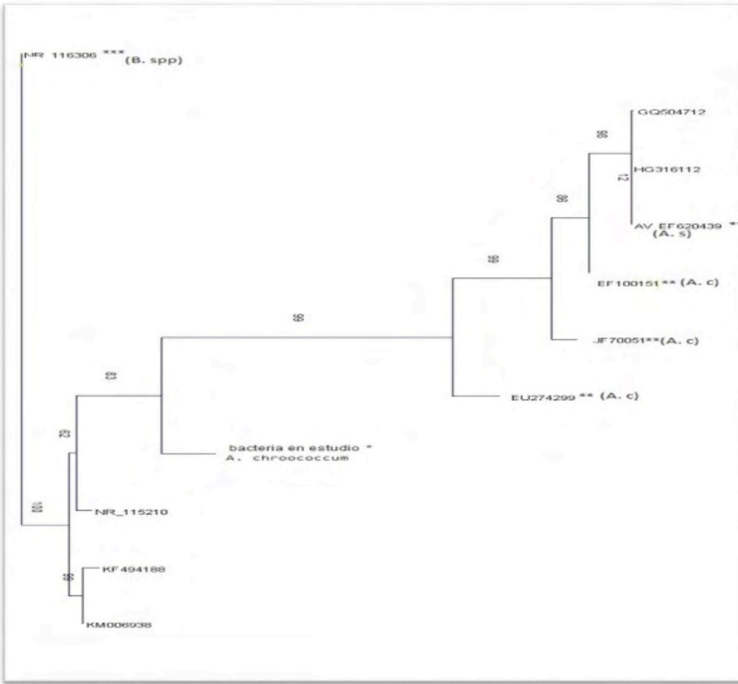


Figura 2. Árbol filogenético basado en secuencias de la región 16S de rDNA con secuencias de otras bacterias extraídas del banco de genes GenBank y la bacteria de estudio *A. chroococcum*. (A. c) * = bacteria en estudio, ** = bacterias con número de acceso GenBank, *Beijerinckia* spp (B. spp) *** = género externo.

La bacteria en estudio *B. subtilis* comparada con otras secuencias en el banco de genes mostró un porcentaje de identidad de 88% con las accesiones GU391355 (Jalali, *et al.,* 2010), JX448379 (Jung, *et al.,* 2012), KM922585 (Jeon, *et al.,* 2014), comparado de igual forma con el género externo de *Clostridium* spp. Figura 3.

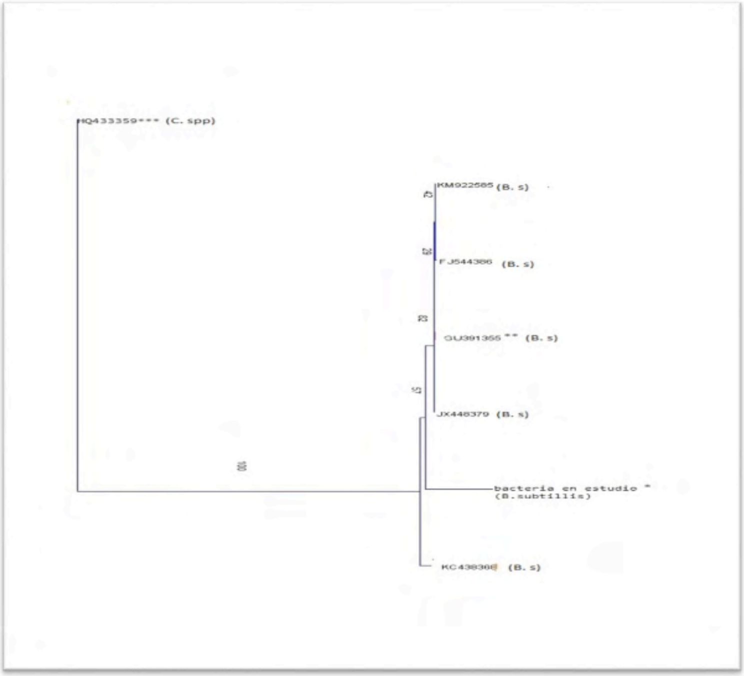


Figura 3. Árbol filogenético basado en secuencias de la región 16S de rDNA con bacterias extraídas del banco de genes GenBank y la bacteria de estudio *B. subtilis*. (B. s) * = bacteria en estudio, ** = bacterias con número de acceso GenBank, *Clostridium* spp (C. spp)*** = género externo.

Para la cepa de estudio bacteriana de *B. megaterium* se obtuvo una similitud del 99% con *B. megaterium* con la accesion KT965083 (Abdellaziz, *et al.,* 2015, Abdellaziz, *et al.,* 2018) sin embargo, comparte una relacion estrecha de 96% con *B. subtilis* con el número de accesion FJ435224 (Zhang, 2008) y KM922585 (Jeon, *et al.,* 2014), y se recurrió al género *Clostridium* spp. (HQ433359) como grupo externo (Figura 4).

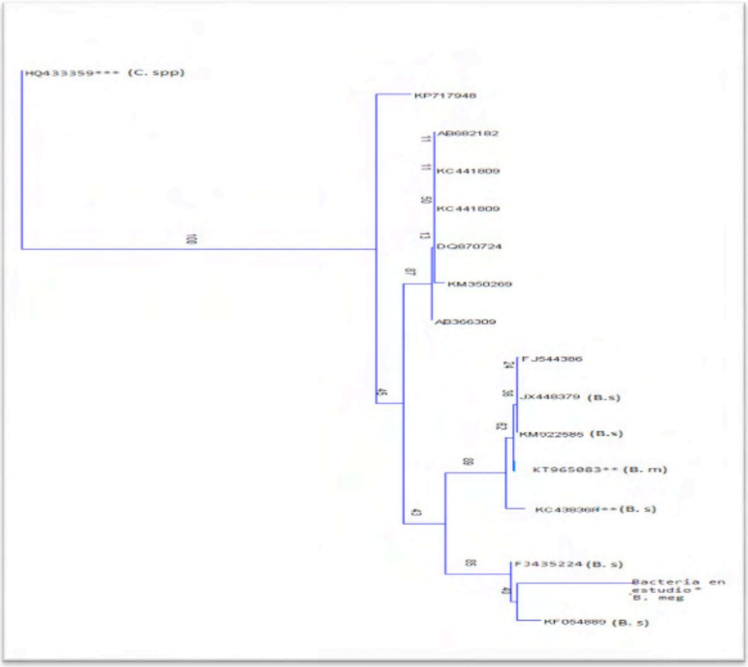


Figura 4. Árbol filogenético basado en secuencias de la región 16S de rDNA con secuencias de bacterias extraídas del banco de genes GenBank y la bacteria de estudio *B. megaterium*. (B. m) * = bacteria en estudio, ** = bacterias con número de acceso GenBank*, Clostridium* spp (C. spp) *** = género externo

CONCLUSIONES

Se identificarón morfológica y bioquímicamente las cepas bacterianas aisladas de suelo: *Azotobacter chroococcum*, Gram negativa, solubilización de fosfato, con motilidad y reducción de nitratos. *Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium,* ambas Gram positivas, con motilidad, crecimiento a 45 y a 65°C respectivamente, solubilizadoras de fosfato, positivas a la degradación de almidón, positivas como fermentadoras de glucosa, lactosa y/o sacarosa y con posición central de la endospora. Las pruebas moleculares en el que se empleó la región del gen DNAr 16S logró la aplificacion de 1500 pb para *Azotobacter chroococcum*, 1446 pb para *Bacillus subtilis* y 1287 pb para *Bacillus megaterium*. El análisis de filogenia por comparación de secuencias reportadas en el GenBank (NCBI) permitió identificar a las bacterias *Azotobacter chroococcum, Bacillus subtilis* y *Bacillus megaterium* con una identidad del 99, 88 y 99% respectivamente, refiriendo una clara consistencia grupal taxonómica definida.

REFERENCIAS

ABDELLAZIZ, L.; ABDERRAHMANI,A.; CHOLLET,M;, BECHET,M.; NATECHE,F., CHATAIGNE,G.; LECLERE,V.; YAICI,L. AND CALY,D. 2015. **Original potential of *Bacillus subtilis* lipopeptides production and screening of Kurstakin's operon with novel specific primer.**

ABDELLAZIZ L; CHOLLETE M; ABDERRAHMANI; BECHET M; YAICI L; CHATAIGNE G; ARGULLES A A; LECLERE V and JACQUES P. 2018. **Lipopeptide biodiversity in antifungal *Bacillus* strains isolated from Algeria.** Archives of Microbiology 200: 1205-1216.

ACUÑA. O; PEÑA. W; SERRANO E; POCASANGRE. L; ROSALES. F; DELGADO. E; TREJOS.J; SEGURA. A. 2006. **La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de suelos**. Joinville- Santa Catarina, Brasil. 12 p

CANO, M.A. 2011. **Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp, y *Pseudomonas* spp**, U.D.C.A. 31p.

CÁRDENAS, F. A.; ESTRADA, L. A AND OLALDE, P. V. 2007. **Yield and quality enhancement of marigold flowers by inoculation with *Bacillus subtilis* and *Glomus fasciculatum*.** Journal of Sustainable Agriculture. 76 p.

CUERVO. L. J. P. 2010. **Aislamiento y caracterización de Bacillus spp. como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfato en dos muestras de biofertilizantes comerciales.** Pontificia Universidad Javeriana. 36 p.

FERRERA, C.R, Y ALARCÓN A. 2007. **Microbiología Agrícola: hongos, bacterias micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo.** Trillas. México. 568 p.

HERNÁNDEZ M.L.G, Y ESCALONA A.M.A. 2003. **Microorganismos que benefician a las plantas: las bacterias PGPR.** Revista de Divulgación Científica y Tecnología de la Universidad Veracruzana. 1(XVI): 32p

HOLT J; KRIEG N; SNEATH A.P.H; STANLEY J.T AND WILLIAM S.T. 2000. **Bergey's manual to determinative bacteriology.** Novena Edición. Baltimore. Maryland. Ed Williams & Wilikins. USA. 787 p

ICA. 2004. **Uso de microorganismos con potencial como biofertilizante en el cultivo de mora.** Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. Instituto Colombiano Agropecuario. ICA. Bogotá. 84p.

JALALI,S.K; RAJESHWARI,R; SRIRAM,S; VENKATESAN,T; LALITHA,Y. AND MAHIBA HELEN,S. 2010. **Submitted Biotechnology, National Bureau of Agriculturally Important Insects.** H.A. Farm Post, Hebbal,Bangalore, Karnataka 560024, India (sin publicación NCBI).

JEON,S.B; RYU,M.S; HEO,J; OH,H.H; JEONG,D.Y. AND UHM,T. B. 2014**. Lactic acid bacteria for the production of fermented soybean paste.**

JIMÉNEZ. A.D.J. 2007. **Caracterización molecular de cepas nativas de *Azotobacter* spp. Mediante el análisis restriccional de DNA ribosomal 16S.** Pontificia Universidad Javeriana. 105p.

JUNG,T.K.; KIM,J.H; AND SONG,H.G. 2012. **Anifungal Activity and Plant Growth Promotion by Rhizobacteria Inhibiting Growth of Plant Pathogenic Fungi.** Misaengmul Hakhoe Chi 48, 16-21

Kumar. P, Dubey. R.C, Mahesh. W. 2012. ***Bacillus* strains isolated from rhisosphere showed plant growth promoting and antagonistic activity antagonist phytopatogens.** Microbiological Research. 493-494.

LIU M; LUO K; WANG ; ZENG A; AND ZHOU X. 2014. **Isolation, Identification and Characteristics of an Endophytic Quinclorac Degrading Bacterium *Bacillus megaterium* Q3.** PLoS ONE 9(9): e108012. doi:10.1371/journal.pone.0108012.

MAC FADDIN J.F. 2003. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Edit. Panamericana. México. 301 p.

MAGALHAES, L.C; MALTEMPI. S.E; BALER. W.O; BALDANI. I.J; BÖBEREINER. J AND OLIVEIRA. P.F. 2001. **16s ribosomal DNA characterization of nitrogen- fixing bacteria isoleted from Banana (*Musa* spp.) and Pineapple (*Ananas comusus* (L) Merril).** Universidad Federal de Panamá, Departamento de bioquímica. Vol 67, No. 5. 2375-2379 pp.

MALIK, K.A; MIRZA,M.S. AND MUKHTAR,S. 2013. **Microbial diversity and metagenomic analysis of the rhizosphere of Para Grass (*Urochloa mutica*) growing under saline conditions. In: Soil Microbiomes for sustainable Agriculture**. Editor: Ajar Nath Yadav. Springer. E-Book.

MAYZ F.J. 2004. **Fijación biológica de nitrógeno.** Revista Científica UDO Agrícola. 1 (4): 20p

NECOCHEA, R.C Y CANUL T. J.C. 2004. **Secuenciación de ácidos nucleótidos.** Proyecto de investigación. 48p.

PEDRAZA L.A.; LÓPEZ C.E.; Y URIBE-VÉLEZ D. 2020. **Mecanismos de acción de *Bacillus* spp. (Bacillaceae) contra microorganismos fitopatógenos durante su interacción con plantas.** Acta Biol. Colombiana 25(1): 112-125.

RODICIO. M.R. Y MENDOZA M.C. 2004. **Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARN16S:** Fundamento, mitología y aplicaciones en microbiología clínica. 7p.

SCHAAD W. N. 2001. **Laboratory guide for indentification of Plant pathogenic bacteria.** 2nd edition. APS PRESS. USA. 158 P.

VALADEZ M.E Y KAHL. G, 2000. **Huella de DNA en genomas de platas.** Mundi-Prensa- UACH. 168 p.

WOLFGANG, L. 1986. **Antifungal effects of bacilysin and fengymycin from *Bacillus subtilis* F-29-3 A comparison with activities of other *Bacillus* antibiotics.** Journal of Phytopathology, 2(115) 354p.

Vessey K.J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. Plant and Soil 55: 571-586

Yongfeng, L. 2007. **Bacisubin, an antifungal protein with ribonuclease and hem agglutinating activities from *Bacillus subtilis* strain B-916.** Peptides 1(28): 570p

Young,J.M. and Park, D.C. 2007. **Probable synonymy of the nitrogen-fixing genus *Azotobacter* and genus *Pseudomonas.*** International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 57, 2894-2901.

CAPÍTULO 15

MORFOFISIOLOGIA DE FEIJÃO-MUNGO EM RESPOSTA À SALINIDADE DA ÁGUA DE IRRIGAÇÃO

Data de aceite: 19/07/2022

Antônio Aécio de Carvalho Bezerra
Universidade Federal do Piauí. Departamento de Planeamento e Política Agrícola
Teresina, PI
orcid.org/0000-0001-7681-6426

Romário Martins da Costa
Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Ciências Agrárias - PPGCA, Universidade Federal do Piauí
Bom Jesus, PI
orcid.org/0000-0001-5429-4663

Marcos Renan Lima Leite
Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Agronomia – PPGA, Universidade Federal do Piauí
Teresina, PI
orcid.org/0000-0002-2910-9232

Sâmia dos Santos Matos
Mestre em Agronomia pela Universidade Federal do Piauí
Teresina, PI
orcid.org/0000-0002-4573-9277

José Valdenor da Silva Júnior
Doutor em Agronomia pela Universidade Federal do Piauí
Teresina, PI
orcid.org/0000-0002-7763-9158

Kathully Karoline Brito Torres
Bolsista PIBIc da Universidade Federal do Piauí
Teresina, PI
lattes.cnpq.br/5842168683904176

Francisco Reinaldo Rodrigues Leal
Universidade Estadual do Piauí
Picos, PI
lattes.cnpq.br/9070269041046466

RESUMO: O feijão-mungo tem grande potencial para inserção nos sistemas agrícolas familiares ou empresariais, notadamente na região Nordeste do Brasil, onde as condições edafocliáticas podem favorecer a salinização dos solos e/ou, das águas de irrigação. Assim, a identificação de genótipos com tolerância a salinidade pode viabilizar cultivos de feijão-mungo em condições de estresse salino. O estudo objetivou avaliar as respostas morfofisiológicas nas fase vegetativa de linhagens de feijão-mungo cultivadas sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação. Foram avaliados cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação - CEai [0,5 (controle); 2; 4; 6 e 8 dS m^{-1}] e duas linhagens: Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2). A salinidade afetou a altura da planta, diâmetro do caule, número de nós do ramo principal, número de folhas e a massa seca da planta. Os efeitos negativos dos aumentos da salinidade na ALT se intensificam com o avanço do ciclo e a L2 apresentou ALT significativamente superiores à L1 aos 23 e 33 DAS. Houve reduçõesna massa seca total de 35,5% para L1 e de 54,8% para L2. As linhagens não apresentram diferenças quanto ao conteúdo relativo de água das folhas e índice de tolerância a salinidade. Os efeitos negativos dos aumentos na CEai são mais expressivos no final do estádio vegetativo.
PALAVRAS-CHAVE: *Vigna radiata*. Estresse

salino. Resposta morfofisiológica. Tolerância à salinidade.

MUNG BEAN MORPHOPHYSIOLOGY IN RESPONSE TO IRRIGATION WATER SALINITY

ABSTRACT: The mung bean has great potential for insertion in family or business agricultural systems, notably in the Northeast region of Brazil, where soil and climate conditions can favor salinization of soils and/or irrigation waters. Thus, the identification of genotypes with salinity tolerance can enable mung bean crops under saline stress conditions. The objective of this study was to evaluate the morphophysiological responses in the vegetative phase of mung bean lines cultivated under different irrigation water salinity levels. Five levels of electrical conductivity of irrigation water were evaluated - CEai [0.5 (control); 2; 4; 6 and 8 dS m-1] and two strains: Mungo black-PLMG (L1) and Mungo verde-PLMG (L2). Salinity affected plant height, stem diameter, number of nodes on the main branch, number of leaves and plant dry mass. The negative effects of salinity increases on ALT intensify as the cycle progresses, and L2 showed ALT significantly higher than L1 at 23 and 33 DAS. There were reductions in the total dry mass of 35.5% for L1 and 54.8% for L2. The lines did not show differences regarding the relative water content of the leaves and the salinity tolerance index. The negative effects of increases in CEai are more expressive at the end of the vegetative stage.
KEYWORDS: *Vigna radiata*. Saline stress. Morphophysiological response. Salinity tolerance.

1 I INTRODUÇÃO

O feijão mungo é uma leguminosa com grande potencial para inserção nos sistemas agrícolas de produão familiar ou empresarial, notadamente na região Nordeste do Brasil, o que consequente, possibilitará ampliação da produção, consumo e comercialização brasileira, nos cenários interno e externo.

A cultura apresenta ciclo curto, baixo custo produção em monocultivo ou consorciado, como safrinha ou cultura principal, ampla adaptabilidade edafoclimática, aplicação diversificada na alimentação, ótimas características no espectro nutricional e potêncial crescente de participação nos mercados interno e principalmente, externo.

As condições de evapotranspiração elevada e baixas precipitações pluviométricas carcterísticas das regiões Áridas e Semiáridas, podem favorecer o acúmulo excessivo de sais no solo promovendo a salinização dos mesmos (RICHARDS, 1954). A salinidade pode ser provocada por fatores naturais e/ou antrópicos, através de águas salinas e/ ou de práticas culturais inadequadas (FAO, 2015), que isoladas ou em conjunto, afetam solos em mais de 100 países (ULLAH *et al*., 2018), atingindo cerca de 20% dos solos cultivados e 33% das áreas irrigadas (SHRIVASTAVA; KUMAR, 2015). Diversas projeções apontam para a intensificação do processo de salinização dos solos nos próximos anos, como consequências de fatores naturais e principalmente, devido às práticas antrópicas inadequadas usadas em alguns sistema de produção agrícolas.

Atualmente, a salinidade dos solos pode ser limitante para a produção comercial de muitas espécies cultivadas, com consequente redução potencial da produção agrícola, da

sustentabilidade do meio ambiente e da segurança alimentar (HAYAT *et al*., 2019). Assim, será inevitável a expansão da agricultura para áreas marginais, dentre elas, aquelas de solos salinos (HAYAT *et al*., 2019) e/ou de águas com diferentes níveis de salinidade para uso na irrigação (TOMAZ *et al*., 2020).

O feijão-mungo é classificado como sensível à salinidade, com valor limiar de 1,8 dS m^{-1} (MINHAS *et al*., 1990). Estudos avaliando o cultivo de feijão-mungo sob estresse salino verificaram redução em parâmentros morfofisiologicos e de crescimento, como número de folhas, comprimento radicular (MANASA *et al*., 2017), número de ramos (SUNIL KUMAR *et al*., 2012; SILVA *et al*., 2021), altura da planta, área foliar, taxa de fotossíntese (Mahmood *et al*., 2016), teor relativo de água (NAHAR *et al*., 2016) e massa seca (KHAN *et al*., 2014). Entretanto, entre as linhagens ou variedades de uma espécie, é comum a existência de diferentes níveis de tolerância/resistência aos fatores de estresse. Assim, estudos de avaliação intraespecífica sobre as respostas da cultura aos fatores de estresse é uma alternativa promissora para indentificar a presença de tolerância/resistência ao fator de estresse e reduzir seus efeitos nocivos. O estudo objetivou avaliar as respostas morfofisiológicas nas fase vegetativa de duas linhagens de feijão-mungo cultivadas sob diferentes níveis de salinidade da água de irrigação..

2 | MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em ambiente protegido, no período de novembro a dezembro de 2019, na área experimental do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, em Teresina-PI (5º05'21'' S e 42º48'07" O, 72 m de altitude).

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado, no esquema fatorial 5x2, com seis repetições. Foram avaliados cinco níveis de salinidade da água de irrigação (Sai), correspondentes às condutividades elétricas (CEai) de 0,5 (controle); 2; 4; 6 e 8 dS m^{-1} e duas linhagens (L) de feijão-mungo, Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2).

O cultivo foi realizado em vasos plásticos de 5,0 dm^3 preenchidos com quatro quilogramas de Argissolo Vermelho-Amarelo eutrófico (PVAe) de textura franco arenosa ou areia franco, com as seguintes características químicas e granulométricas (Tabela 1).

pH	P	K	Ca	Mg	Na	Al	H+Al	CTC	V	Areia	Silte	Argila
H_2O	mg dm^{-3}	-------------------------cmol$_c$ dm^{-3}-----------------------							---------------%--------------			
6,23	0,20	0,13	2,45	0,82	0,09	0,10	1,45	4,94	70,06	81	13	6

Tabela 1 - Características químicas e granulométricas do solo utilizado no experimento. Teresina-PI, 2022

A adubação nos vasos foi realizada com base na análise de solo e conforme

recomendação de Mbeyagala *et al*. (2017), aplicando-se o equivalente a 15 kg de N, 60 kg de P_2O_5 e 100 kg de K_2O ha^{-1} no plantio. A semeadura foi realizada em 18/11/2019 utilizando-se cinco sementes por vaso, em profundidade de 2 cm. O desbaste de plantas foi realizado aos 12 dias após a semeadura (DAS), deixando-se apenas a planta mais vigorosa de cada vaso.

Os níveis de salinidade foram aplicados diariamente, no turno da manhã, via água de irrigação, iniciando-se no 12º DAS, após o surgimento e expansão da primeira folha trifoliada conforme Sehrawat *et al*. (2015). A condutividade elétrica específica de cada nível de salinidade da água de irrigação, exceto o controle, foi obtida com a dissolução de NaCl na água, em conformidade com a curva de calibração de Aquino *et al*. (2017) e utilizando-se um condutivímetro portátil HM (modelo COM-80) para monitoramento. As irrigações foram efetuadas diariamente para reposição de 100% da capacidade de vaso. Para o controle da irrigação, foi determinada a capacidade de retenção de água do solo nos vasos pelo método da pesagem, sendo realizadas pesagens diárias, no período da manhã, de dois vasos escolhidos ao acaso em cada nível de salinidade.

As variáveis altura das plantas (ALT); diâmetro do caule (DC); número de nós do ramo principal (NNRP) e número de folhas trifoliadas (NFT), foram avaliadas aos 23 e 33 DAS, em seis e três plantas de cada tratamento, respectivamente. As matérias secas: da raíz (MSR), do caule (MSC), das folhas (MSF) e total da planta (MST), índice de tolerância à salinidade (ITS) e conteúdo relativo de água (CRA), foram avaliadas em três plantas de cada tratamento, aos 24 e 34 DAS. As plantas foram coletadas, separadas em raízes, caules e folhas, sendo cada parte, pesada individualmente e acondicionadas em sacos de papel. Em seguida, todas as partes foram colocadas em estufa de circulação forçada a 65 ºC até atingir massa constante, quando determinou-se as massas secas. O conteúdo relativo de água das folhas foi determinado de acordo com Chen *et al*. (2009) e o índice de tolerância a salinidade de acordo com Mustafiz *et al*. (2014).

Os dados foram submetidos aos testes de normalidade (Teste de Shapiro-Wilk) e homocedasticidade (Teste de Brown-Forsythe). Atendidas essas pressuposições, realizou-se às análises de variâncias ($p<0,05$) com regressão polinomial para os níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai) utilizando-se o software estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2011).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito negativo da salinidade na altura da planta com reduções de 23,3 e 49,9% aos 23 e 33 DAS, respectivamente, quando comparadas as respostas das CEai's 0,5 (controle) e 8,0 dS m^{-1} (Figura 1A). Aos 23 DAS, houve redução linear de 3,17% na altura da planta para cada unidade de aumento da CEai, porém, aos 33 DAS, as reduções ocasionadas pelos aumentos nas CEai foram de 30,2% para o intervalo de 0,5 a 4,0 dS

m^{-1}, de 47,74% para o intervalo de 0,5 a 6,0 dS m^{-1} e de apenas 4,1% para o intervalo de 6,0 a 8,0 dS m^{-1}. Estes resultados demonstram que os efeitos negativos dos aumentos da salinidade na ALT ocorrem durante todo o ciclo vegetativo e se intensificam com o avanço do ciclo da cultura.

A L2 apresentou ALT significativamente superiores à L1 aos 23 e 33 DAS (Figura 2A). Silva *et al*. (2021), observaram reduções 31,9% no comprimento do epicótilo e 60,9% no comprimento das plântulas nos potenciais osmóticos de -0,3 e -1,5 MPa quando comparados com o tratamento controle. Os elevados teores de sais solúveis, especialmente o NaCl, causam reduções no potencial hídrico do substrato, reduzindo a capacidade de absorção de água pela planta. Reduções na ALT de feijão-mungo em respostas à salinidade foram observadas por Nawas *et al.* (2021), Sehrawat *et al*. (2019), Hapsari e Trustinah (2018). Atividades enzimáticas, metabolismo, divisão celular e fotossíntese são afetados pelo estresse salino (MANASA *et al*., 2017), que também, pode promover redução do turgor nos tecidos meristemáticos da planta (JAHAN *et al*., 2020).

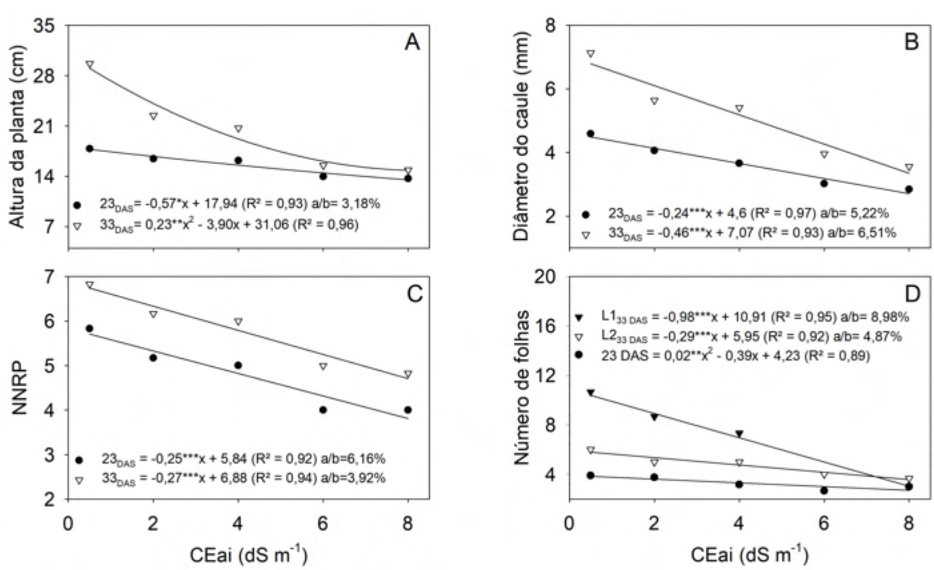


Figura 1 - Altura de planta (A), diâmetro do caule (B), número de nós do ramo principal (NNRP) (C) e número de folhas (D) nas linhagens Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2), cultivadas sob cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai) aos 23 e 33 DAS.

No diâmetro do caule, observou-se reduções lineares de 38,1 e 50,1% aos 23 e 33 DAS, respectivamamente, quando a CEai foi aumentada de de 0,5 (controle) para 8,0 dS m^{-1} (Figura 1B), indicando que os efeitos negativos são cumulativos e, portanto, tornam-se mais severos com o avanço do ciclo da cultura, o que poderá, segundo Bezerra *et al.* (2012), predispor a planta ao acamamento, notadamente na fase produtiva. Para cada unidade de aumento na CEai houve redução linear de 5,2 e 6,5% no DC, respectivamente,

aos 23 e 33 DAS.

Houve decréscimo no número de nós do ramo principal (NNRP) com o aumento da CEai, com reduções de 31,4 e 29,3% aos 23 e 33 DAS, respectivamente (Figura 1C), indicando intensidades similiares dos decréscimos nas duas fases de avaliação. Os nós do ramo principal estão associadosà produção de gemas reprodutivas, e assim, reduções no NNRP promovem uma diminuição direta no potencial de produção da planta.

Aos 23 DAS, o número de folhas (NF) apresentou redução média de 23,1% com o aumento da CEai de 0,5 para 8,0 dS m^{-1}. Aos 33 DAS, houve interação ($p<0,05$) entre LxCEai (Figura 1D) com ajustes lineares para as duas linhagens. Quando comparadas as CEai's de 0,5 e 8,0 dS m^{-1} observaram-se reduções de 65,6 e 38,8% nos NF's de L1 e L2, respectivamente, indicando uma maior capacidade de manutenção das folhas da L2 quando em condições de maiores CEai's. Para cada unidade de aumento na CEai houve redução de 4,9% no NF da L2 e de 10,0% no NF da L1. As duas linhagens apresentaram NF semelhantes nos níveis de 6,0 e 8,0 dS m^{-1}, com 4,0 e 3,7 folhas, respectivamente.

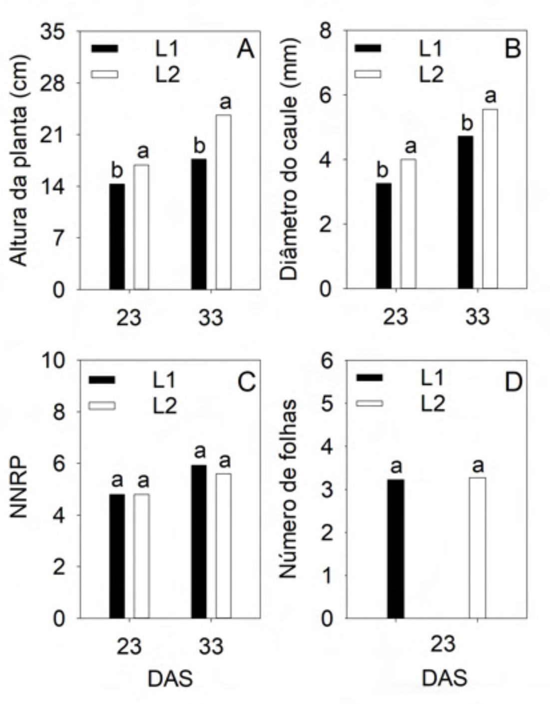


Figura 2 - Altura da planta (A), diâmetro do caule (B), número de nós do ramo principal (NNRP) (C) e número de folhas (D) de duas linhagens de feijão-mungo: Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2), cultivadas sob cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai) aos 23 e 33 DAS.

A L2 apresentou diâmetro do caule significativamente superiores à L1 aos 23 e 33 DAS (Figura 2B). e não houve diferenças significativas entre L1 e L2 para o número de nós do ramo principal aos 23 e 33 DAS (Figura 2C) e para o número de folhas aos 23 DAS (Figura 2D).

A planta sob estresse pode alterar a morfologia da folha, reduzir a área foliar e iniciar a senescência e abscisão foliar precoce. Essas estratégias diminuem a perda de água, entretanto, também reduzem a capacidade fotossintética da planta, o que afeta diretamente o seu rendimento (TAIZ *et al.*, 2017).

Aos 24 DAS, observou-se respostas lineares sem interações significativas e com reduções de 52,4% na MSF, 57,6% na MSC e 53,4% na MSR quando comparadas as CEai de 0,5 e 8,0 dS m^{-1} (Figura 3A, B e C). Para a MST houve interação significativa com respostas lineares e reduções de 35,5% para L1 e de 54,8% para L2, demonstrando que a L1 se apresenta mais tolerante aos efeitos negativos dos aumentos nas CEai (Figura 3D).

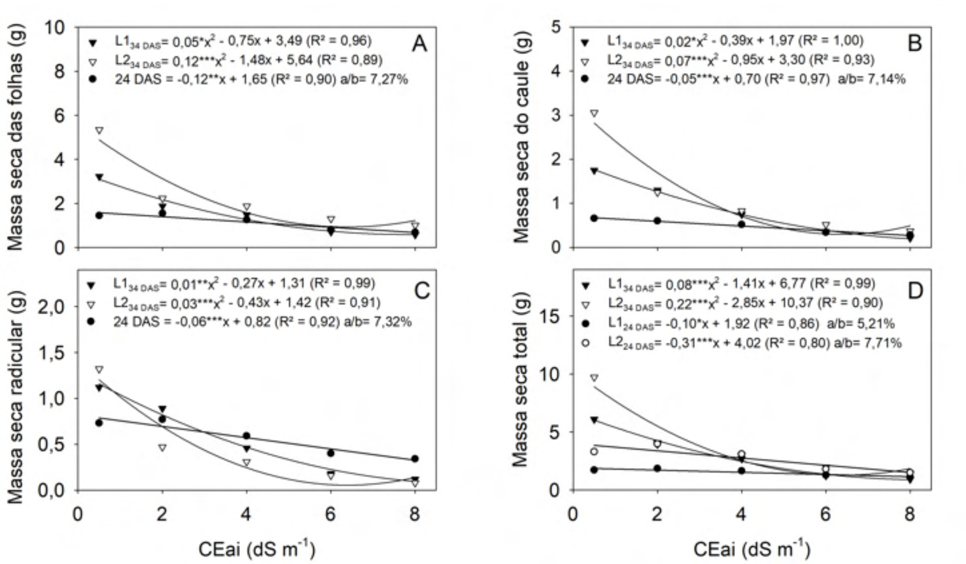


Figura 3 - Massa seca das folhas (MSF) (A), massa seca do caule (MSC) (B), massa seca radicular (MSR) (C) e massa seca total (MST) (D) de duas linhagens de feijão-mungo: Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2), cultivadas sob cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai) aos 24 e 34 DAS.

Aos 34 DAS houve interações significativas entre LxCEai com respostas quadráticas para MSF, MSC, MSR e MST (Figura 3 A, B, C e D). No intervalo de 0,5 a 4,0 dS m^{-1} as linhagens sofreram reduções na MSF de 53,8% (L1) e 64,9% (L2); na MSC de 57,1% (L1) e 72,7% (L2); na MSR de 59,1% (L1) e 76,7% (L2) e na MST de 55,7% (L1) e 68,9% (L2). Considerando-se o intervalo de 0,5 a 8,0 dS m^{-1} as reduções apresentadas pelas duas linhagens foram semelhantes para MSF (82% L1 e 81,8% L2), MSC (87,7% L1 e 87,9% L2)

e MST (84,9% L1 e 85,1% L2), porém, para a MSR, houve uma maior diferença (89,0% L1 e 94,2% L2). As L1 e L2 apresentaram aos 34 DAS, MST com valores máximos no nível de 0,5 dS m^{-1} de 6,1 e 9,73 g, respectivamente, e pontos de mínimos de 0,6 g (L1) na CEai estimada de 8,8 dS m^{-1} e de 1,14 g (L2) na CEai de 6,5 dS m^{-1}.

Reduções no desenvolvimento radicular pode provocar uma menor exploração do solo, influenciando diretamente na absorção de água e de nutrientes (AHMAD *et al.*, 2012), como o Ca, Mg e K (MOHAMMED, 2007). Nazar et al. (2011) relatam que o aumento da salinidade na zona radicular resulta em maiores teores de Na^+ e Cl^- nas folhas e raízes e menores teores de N. Além do desbalanceamento na razão K^+/Na^+ da planta e, portanto, trazendo impactos negativos sobre o seu crescimento (SEHRAWAT *et al.*, 2014).

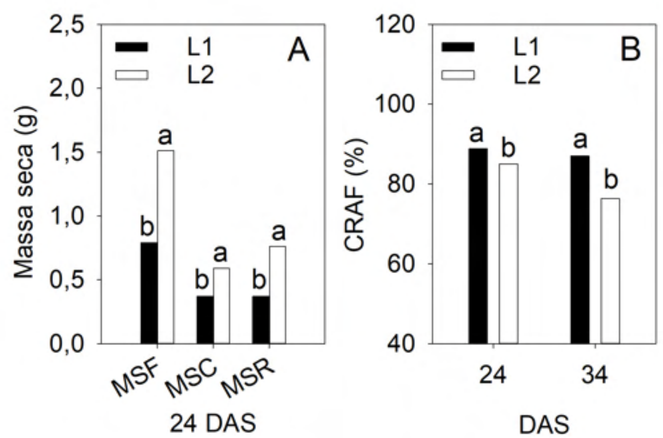


Figura 4 - Massa seca das folhas (MSF), do caule (MSC) e radicular (MSR) (A) aos 24 DAS e conteúdo relativo de água das folhas (CRAF) (B) aos 24 e 34 DAS de duas linhagens de feijão-mungo: Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2), cultivadas sob cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai).

Aos 24 e 34 DAS a L1 apresentou menor redução na massa seca total com a elevação da CEai quando comparada a L2, indicando que essa linhagem é menos afetada quando ocorre incrementos na CEai. Resultado atribuído ao maior investimento da planta na regulação osmótica, com do crescimento e acúmulo de massa seca (AHMAD *et al.*, 2012). A massa seca tem uma relação de acúmulo direta com a taxa de fotossíntese (SUNIL KUMAR et al., 2012).

Houve redução linear do índice de tolerância à salinidade aos 24 DAS e quadrática aos 34 DAS (Figura 5A). Observou-se que, quanto mais elevada é a CEai, menor é o índice de tolerância a salinidade. Contudo, as linhagens não apresentaram diferenças significativas entre si (Figura 5B).

Sob estresse salino, as linhagens apresentaram clorose de forma gradual, inicialmente em folhas mais velhas e em seguida atingindo as folhas jovens, a qual evoluiu

para uma necrose, de mesma tendência anterior, atingindo gradualmente a planta da base para o ápice. Isso ocorre devido o aumento da absorção e acúmulo de Na^+ e Cl^+ nas folhas em detrimento de N, P e Ca, nesse sentido, a deficiência de N e Ca na planta pode provocar à clorose, enquanto a defeciência de P provoca à necrose das folhas (WAHID *et al.*, 2004).

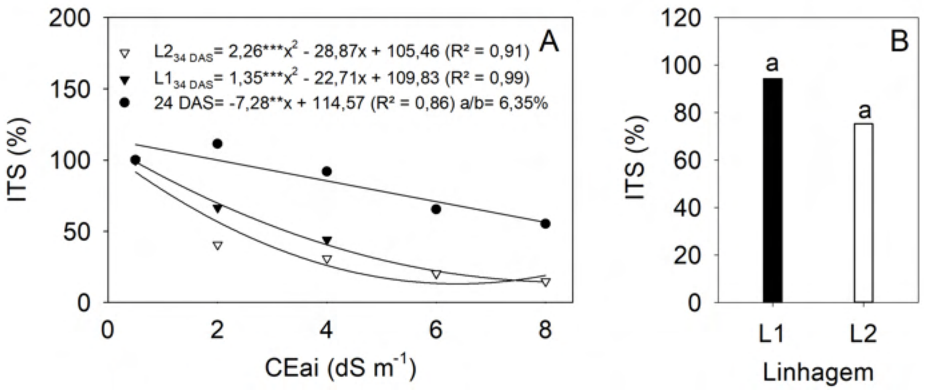


Figura 5 - Índice de tolerância a salinidade (ITS) de duas linhagens de feijão-mungo: Mungo black-PLMG (L1) e Mungo verde-PLMG (L2), cultivadas sob cinco níveis de condutividade elétrica da água de irrigação (CEai) aos 24 e 34 DAS.

De maneira geral, o estresse salino afetou os parâmetros morfofisiológicos e de crescimento das duas linhagens avaliadas nesse estudo. Contudo, os efeitos da salinidade foram menos prejudiacias no ínicio do que no final do estádio vegetativo. Nesse último, atribui-se o efeito acumulativo do sal sobre a a senescência foliar e, consequentemente, a morte das plantas nos níveis de CEai de 6 e 8 dS m^{-1}, indicando que sob elevado estresse salino essas linhagens não conseguem chegar ao estádio reprodutivo.

CONCLUSÕES

O estresse salino tem efeito negativo em todas as carcterísticas morfofisiológicas e o crescimento avaliadas nas duas linhagens que se intensificam com o avanço do ciclo.

No intervalo de 0,5 a 4,0 dS m^{-1}, a L1 é mais tolerante que a L2 e apresenta menores reduções nas matérias secas da raíz, do caule, da folha e total, porém, não apresentam diferenças quanto ao conteúdo relativo de água das folhas e índice de tolerância a salinidade.

REFERÊNCIAS

Ahmad, M., Zahir, Z.A., Asghar, H.N., Arshad, M. The combined application of rhizobial strains and plant growth promoting rhizobacteria improves growth and productivity of mung bean (Vigna radiata L.) under salt-stressed conditions. **Annals of Microbiology**. v. 62, p. 1321–1330, 2012.

Aquino, J.P.A., Bezerra, A.A.C., Alcântara Neto, F., LIMA, C.J.G.S., Sousa, R.R. Morphophysiological responses of cowpea genotypes to irrigation water salinity. **Revista Caatinga**. v. 30, p. 1001-1008, 2017.

Bezerra, A.A.C., Alcântara Neto, F., Neves, A.C., Maggioni, K. Comportamento morfoagronômico de feijão-caupi, cv. BRS Guariba, sob diferentes densidades de plantas. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 55, p. 184-189, 2012.

Chen, J., Shiyab, S., Han, F.X., Monts, D.L., Waggoner, C.A., Yang, Z., Su, Y. Bioaccumulation and physiological effects of mercury in Pteris vittata and Nephrolepis exaltata. **Ecotoxicology**. v. 18, p. 110–121, 2009.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Status of the World's Soil Resources (SWSR) – Main Report. FAO, Rome. 2015. 650 p.

Ferreira, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. v. 35, p. 1039-1042, 2011.

Hapsari, R. T., Trustinah. Salinity Tolerance of Mungbean Genotypes at Seedling Stage. **Biosaintifika**: Journal of Biology & Biology Education. v. 10, p. 408-415, 2018.

Hayat, K., Bundschuh, J., Jan, F., Menhas, S., Hayat, S., Haq, F., Shah, M.A., Chaudhary, H.J., Ullah, A., Zhang, D., Zhou, Y., Zhou, P. 2019. Combating soil salinity with combining saline agriculture and phytomanagement with salt-accumulating plants. **Critical Reviews in Environmental Science and Technology**. v. 50, p. 1085-1115, 2018.

Khan, M.I.R., Asgher, M., Khan, N.A. 2014. Alleviation of salt-induced photosynthesis and growth inhibition by salicylic acid involves glycinebetaine and ethylene in mungbean (Vigna radiata L.). **Plant Physiology and Biochemistry**. v. 80, p. 67-74, 2018.

Mahmood, S., Daur, I., Al-Solaimani, S.G., Ahmad, S., Madkour, M.H., Yasir, M., Hirt, H., Ali, S., Ali, Z. 2016. Plant growth promoting rhizobacteria and silicon synergistically enhance salinity tolerance of mung bean. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, p. 1-14, 2018.

Manasa, R., Bindumadhava, H., Nair, R., Prasad, G., Shankar, A. Screening mungbean (Vigna radiata L.) lines for salinity tolerance using salinity induction response technique at seedling and physiological growth assay at whole plant level. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**. v. 7, p. 1-12, 2017.

Mbeyagala, K.E., Amayo, R., Obuo, J.P., Pandey, A.K., War, A.R., Nair, R.M. A manual for mungbean (greengram) production in Uganda. **National Agricultural Research Organization (NARO)**, Uganda. 2017. 32 p.

Minhas, P.S., Sharma, D.R., Khosla, B.K. 1990. Mungbean response to irrigation with waters of different salinities. Irrigation Science 11: 57-62.

Mohammed, A.H.M.A. Physiological aspects of mungbean plant (Vigna radiata L. Wilczek) in response to salt stress and gibberellic acid treatment**. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences**. v. 3, p. 200-213, 2007.

Mustafiz, A., Ghosh, A., Tripathi, A.K., Kaur, C., Ganguly, A.K., Bhavesh, N.S., Tripathi, J.K., Pareek, A., Sopory, S.K., Singla-Pareek, S.L. 2014. A unique Ni^{2+} -dependent and methylglyoxal-inducible rice glyoxalase I possesses a single active site and functions in abiotic stress response. **The Plant Journal.** v. 78, p. 951–963, 2007.

Nahar, K., Hasanuzzaman, M., Rahman, A., Alam, M.M., Mahmud, J.-A., Suzuki, T., Fujita, M. Polyamines confer salt tolerance in mung bean (Vigna radiata L.) by reducing sodium uptake, improving nutrient homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification systems. **Frontiers in Plant Science**. v. 7, p. 1-14, 2016.

Nawaz, M., Ashraf, M.Y., Khan, A., Nawas, F. 2021. Salicylic Acid– and Ascorbic Acid – Induced salt tolerance in Mung bean (Vigna radiata (L.) Wilczek) accompanied by oxidative defense mechanisms. **Journal of Soil Science and Plant Nutrition**. v. 21, p. 2057-2071, 2016.

Nazar, R., Iqbal, N., Syeed, S., Khan, N.A. Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivars. **Journal of Plant Physiology**. v. 168, p. 807-815, 2011.

Richards, L.A. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. USDA, Washington, 1954. 160 p.

Silva, E. C.,1, Silva, L. S., Galvão, C. S. G., Ferreira, N. C. F., Masiero, M. A., Oliveira, L. A. B., Reis, W., Menechini, W. Qualidade fisiológica de sementes de feijão mungo submetidas ao estresse salino. **Revista Brasileira de Agropecuária Sustentável**. v. 11, p. 207-212, 2021.

Sehrawat, N., Bhat, K.V., Sairam, R.K., Jaiwal, P.K. Screening of mungbean [*Vigna Radiata* (L.) Wilczek] genotypes for salt tolerance. **International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences**. v. 4, p. 36-43, 2014.

Sehrawat, N., Yadav, M., Bhat, K.V., Sairam, R.K., Jaiwal, P.K. Effect of salinity stress on mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek] during consecutive summer and spring seasons. **Journal of Agricultural Sciences**. v. 60, p. 23-32, 2015.

Sehrawat, N., Yadav, M., Sharma, A. K., Kumar, V., Bhat, K. V. Salt stress and mungbean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]: effects, physiological perspective and management practices for alleviating salinity. **Archives of Agronomy and Soil Science**. v. 65, p. 1287-130, 2019.

Shrivastava, P., Kumar, R. 2015. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. **Saudi Journal of Biological Sciences**. v. 22, p. 123–131, 2019.

Sunil Kumar, B., Prakash, M., Narayanan, S., Gokulakrishnan, J. 2012. Breeding for salinity tolerance in mungbean. *APCBEE Procedia* 4: 30–35.

Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I.M., Murphy, A. *Fisiologia e desenvolvimento vegetal*. Artmed, Porto Alegre. 2017. 858 p.

Tomaz, A., Palma, P., Alvarenga, P., Gonçalves, M.C. Soil salinity risk in a climate change scenario and its effect on crop yield. 351–396. In: Prasad, M. N. V., Pietrzykowski, M. **Climate Change and Soil Interactions**. Elsevier. p. 351-396. 2020.

Ullah, S., Dahlawi, S., Naeem, A., Rengel, Z., Naidu, R. Biochar application for the remediation of salt-affected soils: Challenges and opportunities. **Science of The Total Environment**. v. 625, p. 320–335. 2018.

Wahid, A., Hameed, M., Rasul, E. Salt-induced injury symptom, changes in nutrient and pigment composition, and yield characteristics of mungbean. **International Journal of Agriculture & Biology.** v. 6, p. 1143–1152. 2004.

CAPÍTULO 16

PERSPECTIVAS DEL CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS ASOCIADOS A LA SECADERA DEL CULTIVO DE CHILE

Data de aceite: 19/07/2022

Omar Jiménez-Pérez
Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Saltillo, Coahuila. Correos

Gabriel Gallegos-Morales
Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Saltillo, Coahuila

Juan Manuel Sanchez-Yañez
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Investigaciones en Química y Biología
Morelia, Michoacán

Miriam Desiree Dávila-Medina
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila

Francisco Castillo-Reyes
Campo Experimental Saltillo-INIFAP
Saltillo, Coahuila

RESUMEN: El cultivo de chile en México es de gran importancia, sin embargo, su producción se ve afectada en gran medida por la enfermedad conocida como la secadera del chile, la cual es ocasionada por un complejo de fitopatógenos, en los que se encuentran *Fusarium* spp*, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora capsici, Pythium* sp., entre otros, los cuales llegan a ocasionar daños hasta del 100%. Para su control los agricultores usan el control químico, el cual además de no resolver la problemática por completo causa repercusiones a la salud de las personas y medio ambiente. El uso de microorganismos antagonistas como *Trichoderma* sp, *Bacillus* sp, *Streptomyces* sp, entre otros, ademas de extractos botanicos y compuestos naturales como el quitosano quen han demostrado tener una buena efectividad de control en contra de los fitopatógenos causantes de esta enfermedad y que activan el sistema de defensa de las plantas y estimulan crecimiento vegetal.

PALABRAS CLAVE: Cultivo de chile, secadera, microorganismos antagonistas, quitosano.

PERSPECTIVES OF THE BIOLOGICAL CONTROL OF PHYTOPATHOGENS ASSOCIATED WITH THE WILTING OF THE CHILI CROP

ABSTRACT: The cultivation of chili in Mexico is of great importance, however, its production is greatly affected by the disease known as chili scorch, which is caused by a complex of phytopathogens, including *Fusarium* spp, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* sp., among others, which can cause up to 100% damage. For its control, farmers use chemical control, which, in addition to not completely solving the problem, causes repercussions on the health of people and the environment. The use of antagonistic microorganisms such as *Trichoderma* sp, *Bacillus* sp, *Streptomyces* sp, among others, also botanical extracts and natural compounds such as chitosan have been shown to have good control effectiveness against the phytopathogens that cause this disease, in

addition to activating the defense system of plants and stimulate plant growth.
KEYWORDS: Chili cultivation, dryer, antagonistic microorganisms, chitosan.

IMPORTANCIA DEL CULTIVO EN MÉXICO

El cultivo de chile para México es importante de manera cultural, social, nutricional, genética y económica. México se considerada el centro de domesticación de esta hortaliza y el país con mayor diversidad de especies. Es de consumo común en la dieta de los mexicanos (SIAP, 2020), alcanza un promedio percapita de 17.2 kg/año. Este cultivo aporta el 20% de la producción nacional de hortalizas, siendo México el 2° país a nivel mundial en su producción (SIAP, 2021), con una superficie de siembra aproximada de 149,693.65 ha y una producción de 3,086,742.28 t al año, generando un valor en la producción de más de 30 000 millones de pesos en el año 2021. Este cultivo se cultiva en toda la república mexicana siendo los principales estados productores Zacatecas, San Luis Potosí, Chihuahua, Sinaloa y Jalisco (Fig. 1) (SIAP, 2022). Entre las principales variedades cultivadas se encuentran las especies *Capsicum annuum* como; el jalapeño, pimiento morrón, poblano y serrano (Bobadilla-Larios *et al*., 2017) y la especie *C. chinense* (habanero) (Ruiz-Bello et al., 2016).

Gran parte de la producción de este cultivo se destina a la exportación, lo cual ubica a México entre los mejores 3 países que comercializan esta hortaliza, con 1 160 581 t (SIAP, 2021), distribuidas a 47 países (SIAP, 2020), siendo EUA el principal cliente, seguido de Canadá, España y Guatemala, entre otros países (SIAP, 2021).

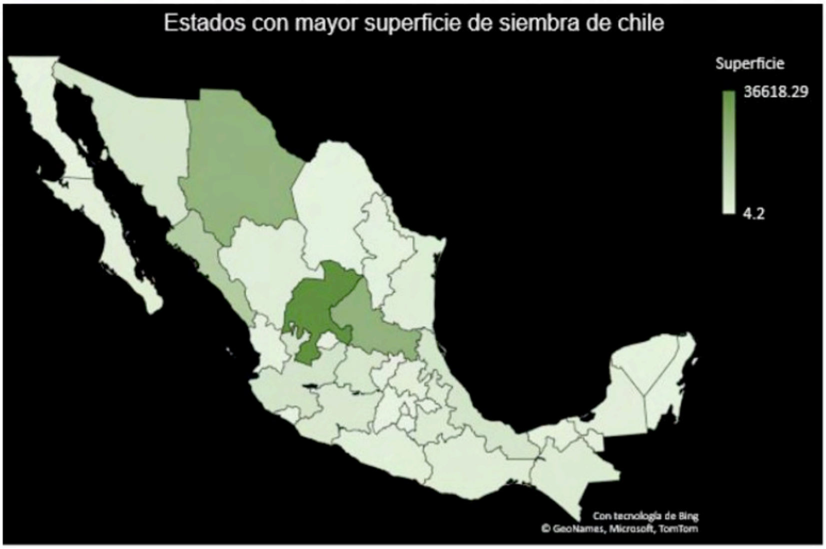


Figura 1: Principales estados productores de chile en México.

IMPORTANCIA DE LA SECADERA DEL CHILE

Una de las enfermedades más comunes en la producción de esta hortaliza es la conocida como la secadera o marchitez del chile (Fig. 2- A), la cual se puede observar en manchones de plantas dañadas en campo (Fig. 2- B). Esta enfermedad es causada por un complejo de microorganismos, en los que se encuentran los hongos de los géneros *Fusarium* spp, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium* spp, y los oomycetos *Phytophthora capsici* y *Pythium* spp (Velásquez-Valle y Reveles-Torres, 2017; Gómez-Hernández *et al*., 2018). Estos fitopatógenos también pueden causar problemas en etapa de plántula (Fig. 2- D) ocasionando la enfermedad denominada "Damping off" (Fig. 2- C), donde destaca el Oomyceto *Pythium* spp (Larios *et al*., 2019).



Figura 2: Daños causados por la secadera del chile. A- daños en etapa temprana en plantación de chile serrano a campo abierto. B) Daño en etapa tardía en plantas de chile serrano. C) plántula doblada debido al "Damping off". D) Daños causados en la producción de plántula en charolas en invernadero a causa del "Damping off".

CARACTERÍSTICAS DE LOS PRINCIPALES FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE LA SECADERA DEL CHILE

***Fusarium* spp:** se reportan varias especies de este fitopatógeno causando esta enfermedad como lo son; *Fusarium oxysporum, F.* verticilloides, *F. solani*, *F. equisti* (Anaya-

López *et al*., 2011), los cuales tienen la capacidad de sobrevivir de un ciclo a otro como parasito en diversas especies de plantas o como saprofito en forma de clamidosporas o cualquiera de sus otras esporas en restos de plantas (De Granada *et al*., 2001; Retana *et al.,* 2018). Este fitopatógeno tiene la capacidad infectar tanto en estado de plántula ocasionando "damping off" y en estado avanzado del cultivo provocando la marchitez o secadera, además, se reporta que *Fusarium* sp., ocasionando un mayor porcentaje de incidencia de "Damping off" en almácigos de chiles en comparación con *Rhizoctonia solani* (Velásquez *et al*., 2007 y 2014).

Su micelio es de coloración variada (blanco, rosado, morado, entre otras), además de ser de rápido crecimiento, su reproducción es asexual por medio de la producción de microconidias uni o bicelulares (Fig. 3- A), macroconidias curvas (Fig. 3- B) y clamidosporas (Fig. 3- C) terminales o en cadena, además, otras características es su micelio septado y sus fialides cortas o largadas de donde se originan las conidias (De Granada *et al*., 2001; Retana *et al.,* 2018).

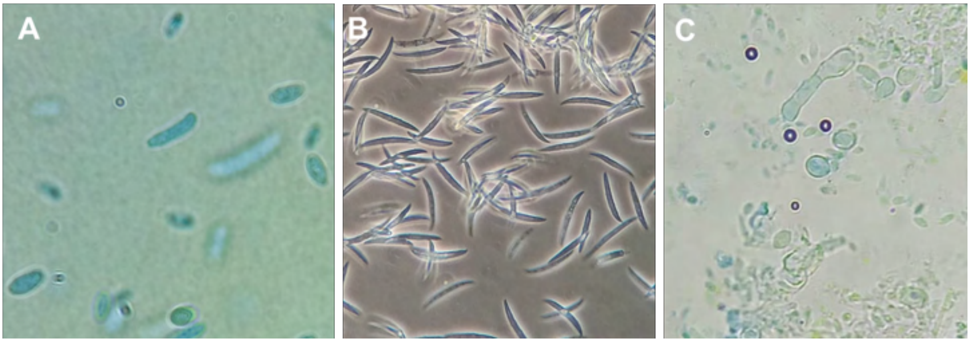


Figura 3: Estructuras morfológicas de *Fusarium* sp. A) microconidias. B) macroconidias curvas en forma de canoa. C) clamidosporas esféricas.

***Rhizoctonia solani*:** permanece en el suelo como paracito o saprofito en materia en descomposición. Se reporta que al inicio del crecimiento de las plántulas llega a causar un 25% de daño en conjunto con *Pythium* causando "Damping off" y en etapa adulta hasta el 33%. Este fitopatógeno se reproduce asexualmente, aunque en ocasiones se da su reproducción sexual como *Thanatephorus cucumeris*. Presenta hifas de coloración café, ramificadas y septadas formando un angulo recto (Fig. 4), además, de la formación de esclerocios (Díaz-Nájera *et al*., 2014; Gómez-Hernández *et al*., 2018), sin embargo, no forma esporas (Cedeño *et al*., 2001).

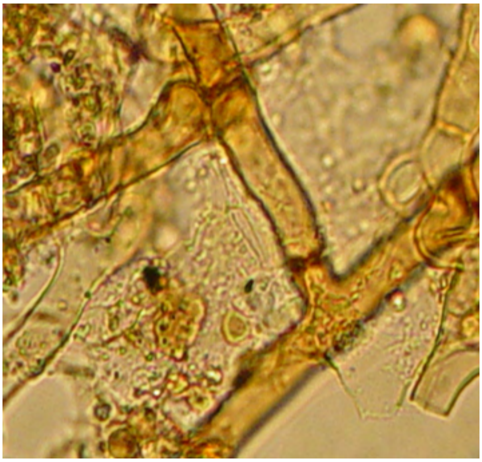


Figura 4: hifas septadas de *Rhizoctonia solani* de coloración café con angulo recto**.**

Sclerotium rolfsii: ataca una gran variedad de plantas, en plántula causa "Damping off" y en etapa adulta provoca secadera, su desarrollo se ve favorecido por alta humedad del suelo y altas temperaturas**.** Su reproducción se da de manera asexual por medio de la formación de esclerocios, en ocasiones se puede presentar su reproducción sexual como *Athelia rolfsii*. Sobrevive en el suelo por largos periodos en forma de esclerocios, siendo esta estructura característica, además, de la presencia de fibulas en las hifas (Fig. 5) (Hernández *et al*., 2004; Hernández y Herrera, 2014).

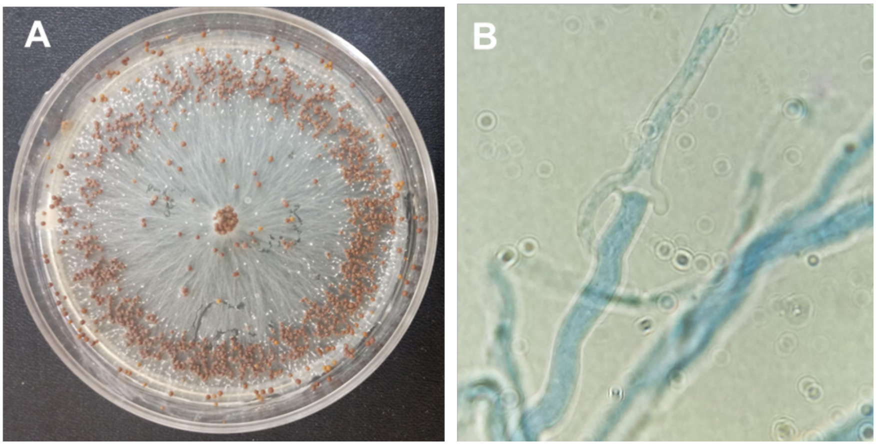


Figura 5: Características morfológicas de *Sclerotium rolfsii.* A) esclerocios. B) micelio con fibula.

***Phytophthora capsici*:** se ve favorecido por climas con temperaturas frescas subtropicales o tropicales y alta humedad (Guerrero-Aguilar *et al*., 2022). Sobrevive por muchos años en forma de oosporas en restos de cosechas de un ciclo a otro debido a que

estas son resistentes a condiciones extremas. Su reproducción sexual se realiza mediante la formación de oogonios y anteridios y asexual por producción de esporangios papilados y zoosporas (Gómez-Hernández *et al*., 2018; Reyes-Tena *et al*., 2020). Presenta crecimiento en forma de roseta en medio de cultivo *in vitro*, el cual se ve favorecido por temperaturas que van de los a 10- 28 °C (Guerrero-Aguilar *et al*., 2022).

***Pythium* spp:** sobrevive como parasito en una gran cantidad de plantas hospederas o saprofito en restos de planta. Ataca principalmente en estado de plánula ocasionando “Damping off”. Su desarrollo se ve favorecido por climas y suelos con alta humedad, y temperaturas muy variadas dependiendo de la especie, por ejemplo, *P. aphanidermatum* lo favorecen temperaturas altas de los 30 a 35°C, mientras que *P. ultimum* requiere de temperaturas inferiores a los 23°C (Jiménez-Pérez *et al*., 2021).

Se reproduce sexualmente mediante la formación de anteridos y oogonios que formará la oóspora (Fig. 6- A) siendo esta la espora de origen sexual, además, es su estructura de resistencia, y asexualmente mediante la formación de esporangios donde se producen las zoosporas (Fig. 6- B), otra característica típica son sus hifas hialinas cenocíticas y su micelio de coloración blanquecina y de rápido crecimiento (Jiménez-Pérez *et al*., 2021).

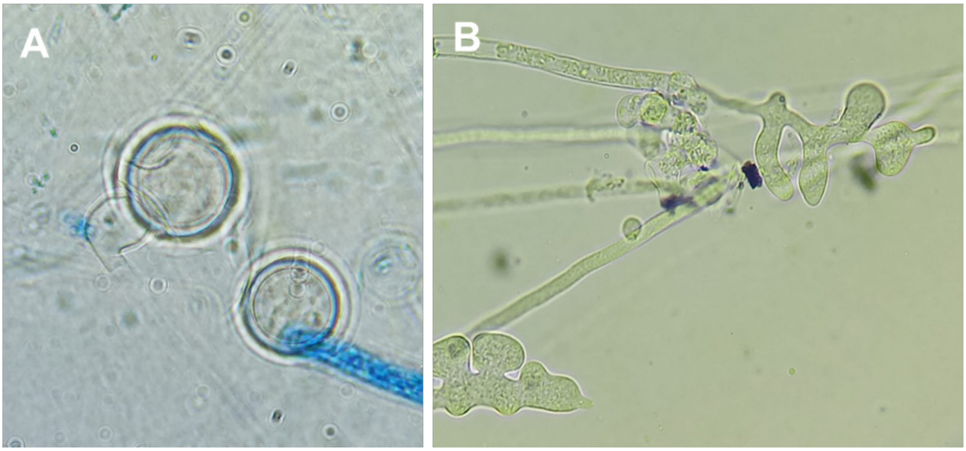


Figura 6: Características morfológicas de *Pythium* sp. A) Oogonios con oóspora y anteridio. B) Esporangios de forma irregular.

SÍNTOMAS DE LA ENFERMEDAD

En México el rendimiento del cultivo del chile es bajo debido a la presencia de fitopatógenos, siendo *Phytophthora capsici* el más desbastador, ya que ocasiona pérdidas que van desde 10 hasta el 100% (Albañil *et al*., 2015; Godínez-Paoli *et al*., 2020), con la presencia de este fitopatógeno en un 60 al 100% de las superficies donde se cultiva

esta hortaliza. La secadera del chile se encuentra distribuida en todos los estados de la republica donde se cultiva esta especie (Ramos *et al*., 2010; Jimenez *et al*., 2018), y han ocasionado que en varios estados se disminuya la superficie de siembra de este cultivo (Guillén *et al*., 2006).

Varios estudios han demostrado que existe una interacción entre estos fitopatógenos para provocar esta enfermedad, además, de que algunas de sus sintomatologías son muy similares (Velásquez *et al*., 2001; Velásquez-Valle *et al*., 2017), como lo son; una menor cantidad de pelos radiculares (Espinoza-Ahumada *et al*., 2019), pudrición de raíces y tallos (Fig. 7- A), en ocasiones con presencia del signo de la enfermedad como lo es el micelio o esclerocios (Fig. 7- B), amarillamiento, marchitez y caída de hojas inferiores (Fig. 7- C) (Gómez-Hernández *et al*., 2018; Andrade-Hoyos *et al*., 2019; Espinoza-Ahumada *et al*., 2019), aborto de flores, madures prematura de frutos y muerte prematura de la planta (Fig. 7- D) (Andrade-Hoyos *et al*., 2019; Espinoza-Ahumada *et al*., 2019). Por su parte Velásquez-Valle y Reveles–Torres, (2017) reportan nuevos síntomas como la necrosis foliar en los márgenes de las hojas, tornándose totalmente de coloración café, defoliación y muerte regresiva de las ramas. En etapa de producción de plántula, la secadera se puede presentar debido al estrangulamiento de la base del tallo “Damping off”, el cual es ocasionado principalmente por *Rhizoctonia solani* y *Pythium* spp., esto se ve favorecido por alta humedad relativa y del suelo, altas temperaturas y días nublados (Gómez-Hernández *et al*., 2018). Por lo tanto, para el manejo de esta enfermedad es de suma importancia identificar al agente causal. Estos patógenos son difíciles de controlar debido a que el suelo les proporciona una protección completa (Ramos *et al*., 2010; Bautista *et al*., 2014).



Figura 7: síntomas ocasionados por la secadera de chile. A) Pudrición de raíces y tallo. B) presencia de micelio y esclerocios. C) marchitez, amarillamiento y defoliación. D) madurez prematura de frutos, defoliación y muerte de la planta.

MÉTODOS DE CONTROL

El principal método de control empleado por los agricultores para el manejo de esta enfermedad se basa en la aplicación de compuestos químicos (Mejía-Bautista *et al*., 2016; Sánchez-García *et al*., 2019) como lo son; el fumigante Metam sodio (Albañil *et al*., 2015), los fungicidas Tiocianometiltio benzotiasol (TCMTB), Metalaxil, Tebuconzole, Carbendazim, Azoxystrobin, Propamocarb, entre otros (Espinoza-Ahumada *et al*., 2019).

El uso inadecuado de estos ingredientes químicos activos han ocasionado graves repercusiones a la salud de las personas, contaminación del medio ambiente (Hernández-Hernández *et al*., 2018; Sánchez-García *et al*., 2019) y desequilibrio en la biodiversidad del suelo debido a que no son selectivos y dañan a los microorganismos benéficos (Robles-Hernández *et al*., 2015; Sánchez-García *et al*., 2019), además los fitopatógenos con el paso del tiempo adquieran resistencia, lo que repercute en una elevación en los costos de producción debido al incremento de las dosis y número de aplicación (Robles-Hernández *et al*., 2015; Reyes *et al*., 2016). En el caso de los Oomycetos la mayoría de los fungicidas químicos no tienen efecto sobre ellos, debido a que estos productos químicos están dirigidos a interrumpir la biosíntesis del ergoesterol y los Oomycetos no sintetizan esteroles, estos los adquieren de sus hospedantes (Bautista *et al*., 2014).

MÉTODOS ALTERNATIVOS DE CONTROL

Es importante el empleo de otros métodos de control que sean amigables con el medio ambiente, la biodiversidad del suelo y la salud de las personas, además que no ocasionen efectos de resistencia en los fitopatógenos. Existen diversos métodos de control alternativos al uso de agroquímicos como lo son; el uso de variedades resistentes, rotación de cultivos, uso de compostas y la biofumigación (Pérez-Acevedo *et al*., 2017). Diversos autores señalan que una de las mejores alternativas de control para el manejo de estos fitopatógenos, es mediante la implementación del control biológico utilizando microorganismos antagonistas (Hernández-Hernández *et al*., 2018; Mejía-Bautista *et al*., 2016; Reyes *et al*., 2016) como lo son, *Trichoderma, Pseudomonas, Bacillus, Paenibacillus, Azotobacter* (Rodríguez *et al*., (2017), *Streptomyces,* entre otros (Robles-Hernández *et al*., 2015) y algunos compuestos orgánicos con propiedades antifúngicas como lo es el quitosano ([b]Jiménez *et al*., 2018; Keller *et al*., 2020) y los extractos botánicos (Terrones, 2013; Tucuch-Pérez et al., 2021)).

VARIEDADES RESISTENTES

El uso de variedades resistentes es una alternativa ecológica para la reducción de daños causados por algunos fitopatógenos causantes de esta enfermedad. Existen algunas variedades resistentes a *P. capsici* como es el caso del chile serrano criollo Morelos 334 (Morán–Bañuelos *et al*., 2010; Palma-Martínez *et al*., 2017), chile ancho San Luis, Fyuco, línea 29, chile Huacle 33.3, 34.1 y 35.3 (Morán–Bañuelos *et al*., 2010; Palma-Martínez *et al*., 2017). Por su parte Anaya-López *et al*., (2011) de 118 lotes muestreado de diferentes tipos chiles (chile mirasol, árbol, puya, y serrano, ancho, cascabel, guajón, pico de pájaro y bolita) encontraron en 26 al menos una planta resistente a *Fusarium* spp, seis especies (cristalino, guajón, güero, paprika y puya) resistentes a *R. solani* y 18 de la accesión BG102 y 20 de la BG107 del banco de germoplasma resistentes a *P. capsici* y la mezcla de los

tres fitopatógenos, cabe mencionar que estos también son chiles serranos criollos de las regiones de Xochitepec y Tepalcingo, Morelos. La busque de este tipo de especies es de gran importancia para poder desarrollar variedades resistentes, encontrándose especies con estas características por lo general en poblaciones nativas (Palma-Martínez *et al.*, 2017), sin embargo, la desventaja es que la resistencia estas especies es hacia un fitopatógeno y rara vez hacia dos o más microorganismos causantes de esta enfermedad, además, de que estas especies de chiles como ya se mencionó son criollas y no se encuentran a la venta en el mercado.

EXTRACTOS BOTÁNICOS

Existen diversos reportes sobre la capacidad inhibitoria de algunos extractos botánicos hacia diversos fitopatógenos, por ejemplo; Terrones, (2013) utilizando extracto etanolico de frutos secos de pimentón a una concentración del 5 % logro inhibir por completo el crecimiento micelial de *F. oxysporum* y *Alternaria solani*. Por su parte Valero *et al.*, (2014) inhibió el crecimiento micelial de *P. capsici* en un 100 % utilizando extractos de acuosos de hojas de gobernadora, hojasen y encino al 10 y 20 %, además, también lograron inhibir en diversas proporciones el crecimiento de *A. solani*, *Botrytis* sp., *Aspergillus flavus* y *Rhyzopus* sp. De manera similar Tucuch-Pérez *et al.*, (2021) lograron reducir la incidencia y severidad causada por *F.* oxysporum en plantas de tomate con extractos de plantas del semidesierto mexicano (*Agave lechuguilla* y *Lippia graveolens*). Estos autores le atribuyen el efecto antagónico de estas plantas a la producción de algunos compuestos como lo son las saponinas que forman complejos con esteroles los cuales afectan a las proteínas y fosfolípidos de las membranas de los fitopatógenos, a la producción de taninos que inhiben el transporte de electrones de la membrana y alterar la producción de algunas enzimas, y a los flavonoides los cuales afectan a las especies reactivas de oxígeno de los hongos, las cuales participan en la formación del turbo germinativo y de las hifas.

CONTROL BIOLÓGICO

Entre los microorganismos más utilizados en el control biológico se reportan algunas rizobacterias, hongos antagonistas, micorrizas (Pérez-Acevedo *et al.*, 2017) y actinobacterias (Sánchez-García *et al.*, 2019).

Existen diversos estudios que comprueban el antagonismo de estos microorganismos benéficos en contra de los fitopatógenos que causan la secadera del chile (Fig. 8), por ejemplo, Hernández-Hernández *et al.*, (2018) reportan una inhibición de más del 87% del crecimiento de *Fusarium* spp., y *Rhizoctonia* spp., utilizando a los géneros *Bacillus* spp., y *Pseudomonas* spp. Villanueva, (2018) logro reducir el daño en plántula causado por *Pythium aphanidermatum* mediante la aplicación de *Trichoderma asperellum*, teniendo resultados similares a la aplicación del tratamiento testigo. Por su parte, Sánchez-

García *et al*., (2019) lograron inhibir a *R. solani*, *F. oxysporum* y *P. capsici* en un 93.84%, 83.88% y 67.54% respectivamente mediante tratamientos con actinobacterias, además, la inoculación de plantas con este microorganismo promovió el crecimiento vegetal. De igual manera Andrade-Hoyos *et al*., (2019) reportan inhibiciones por *T. asperellum*, *T. viride* y *T. harzianum* de 88.25%, 87.22% y 87.8% respectivamente en contra de *P. capsici*, *F. oxysporum* y *R. solani*. Mientras que Li *et al*., (2019) reportaron una incidencia *P. capsici* del 97% en suelo sin presencia de *Bacillus*, a diferencia de suelos inoculados con un consorcio de 18 cepas de *Bacillus* (*B. firmus*, *B. subtilis*, *B. methylotrophicus*, *B. thuringiensis* y *B. aerophilus*) donde la incidencia fue menor (38%). Existen muchos reportes similares a los anteriores, los cuales se describen el cuadro 1.

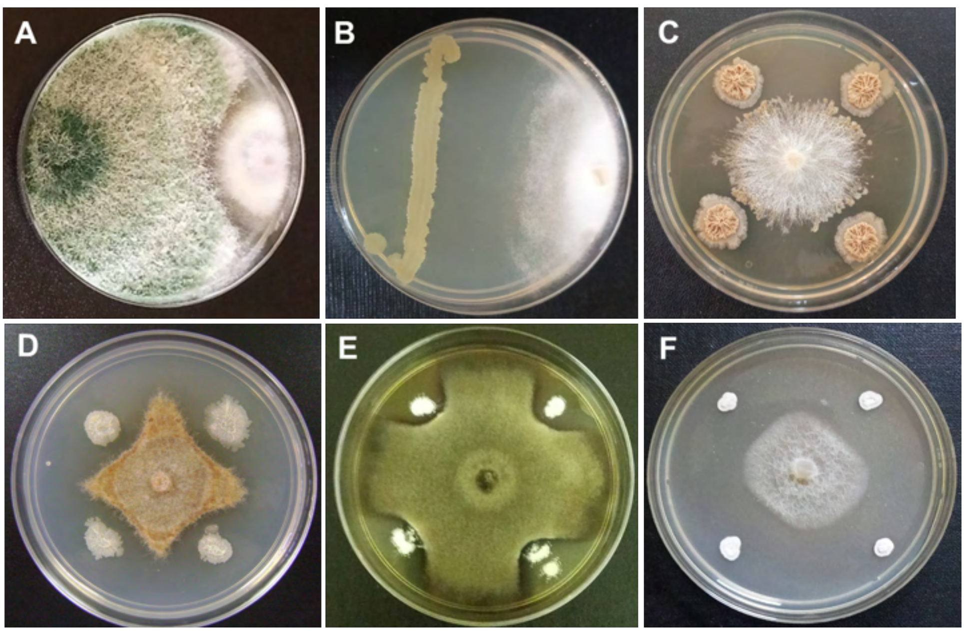


Figura 8: Inhibición de fitopatógenos radiculares del chile por microorganismos benéficos. A) Inhibición de *Fusarium oxysporum* por *Trichoderma harzianum*. B) inhibición de *Pythium aphanidermatum* por *Pseudomonas donghuensis.* C) Inhibición de *Sclerotium rolfsii* por *Bacillus subtilis.* D) Inhibición de *Rhizoctonia solani* por *Bacillus* sp. E) Inhibición de *Alternaria* sp., por *Streptonomices* sp. F) Inhibición de *Fusarium oxysporum* por *Streptomyces globisporus*.

Microorganismos benéficos	Fitopatógenos	Antagonismo	Referencia
Bacillus subtilis	*Rhizoctonia solani*	71%	Asaka *et al.*, (1996)
Bacillus subtilis	*Fusarium* sp	70- 100%	Ariza y Sánchez, (2012)
Streptomyces PRIO41	*Fusarium* en campo	40%	Robles-Hernández *et al.*, (2015)
Bacillus spp	*F. oxysporum*	78%	Rodríguez *et al.*, (2017).
Penicillium	*Phytophthora capsici*	81.25%	[b]Jiménez *et al.*, (2018)
Pseudomonas aeruginosa	*F. oxysporum*	58.33%	Islam *et al.*, (2018)
Actinobacterias (M-14 y M-18)	*Sclerotium rolfsii*	100%	Rodríguez-Guerra *et al.*, (2020)
Trichoderma asperellum *T. harzianum* *T. lignorum*	Marchitez del chile	Disminución de incidencia 71.34%	Gallegos-Morales *et al.*, (2022)

Tabla 1: Reportes de antagonismo de diversos microorganismos benéficos en contra de fitopatógenos.

Estos microorganismos antagonistas actúan de diferentes maneras como lo es; su capacidad de competencia por espacio y nutrientes (Hernández- Hernández *et al.*, 2018), capacidad de producir algunos compuestos como lo son, sideróforos, sustancias antibióticas y fungicidas (Tabla 2) e inducir la resistencia sistémica de las plantas (Mejía-Bautista *et al.*, 2016; Islam *et al.*, 2018; Sánchez-García *et al.*, 2019).

Microorganismo	Compuestos	Referencia
Bacillus spp	Lipopeptidos, Surfactina, Fengicina, Iturina A, Micosubtilinas y Bacilomicinas. Quitinasas, hidrolasas, proteasas y glucanasas	(Asaka *et al.*, 1996; Ariza *et al.*, 2012; Villareal *et al.*, 2018). (Tejera *et al.*, 2011).
Pseudomonas spp	Quitinasas, proteasa y β-glucanasas. Iturina y surfactina Pyoluteorina, pirrolnitrina, ácido 1-fenacina carbóxilico, 2,4 diadetilfloroglucinol, Cianuro de hidrógeno Sideroforos	Hernández-Hernández *et al.*, 2018) Guato-Molina *et al.*, (2019) Álvarez-García *et al.*, (2020)
Penicillium spp	Polisacáridos, glucanasas, celulosas y hemicelulosas.	[a]Jiménez *et al.*, (2018)
Trichoderma	Glucanasa B-1,3, proteasas y quitinasas. Trichodermonas A- C, ácido harziánico (HA) y 6-pentil-a-pirona (6PP).	Gajera *et al.*, (2010) Mesa-Vanegas *et al.*, (2019)

Tabla 2: compuestos producidos por microorganismos benéficos en el control de fitopatógenos.

Además, estos microorganismos poseen otros beneficios como lo son el promover el crecimiento vegetal mediante la producción de algunas hormonas (auxinas, giberelinas y citoquininas), solubilizar y fijar algunos nutrientes como fosforo, potasio y nitrógeno (González *et al*., 2018; Islam *et al*., 2018).

Independientemente al uso de microorganismos antagonistas también existe la alternativa del uso de compuestos de origen natural como es el caso del biopolímero quitosano el cual tiene la capacidad de inhibir el crecimiento micelial de diferentes tipos de fitopatógenos (Fig. 9) como lo reportan, Ramírez-Benítez *et al*., (2019) quienes mediante aplicaciones de quitosano inhibieron el crecimiento micelial *in vitro* de *P*. *capsici* hasta en un 100%. Mientras que Hernández *et al*., (2018) mencionan una disminución del daño causado por *R. solani* en plantas de frijol tratadas con quitosano.

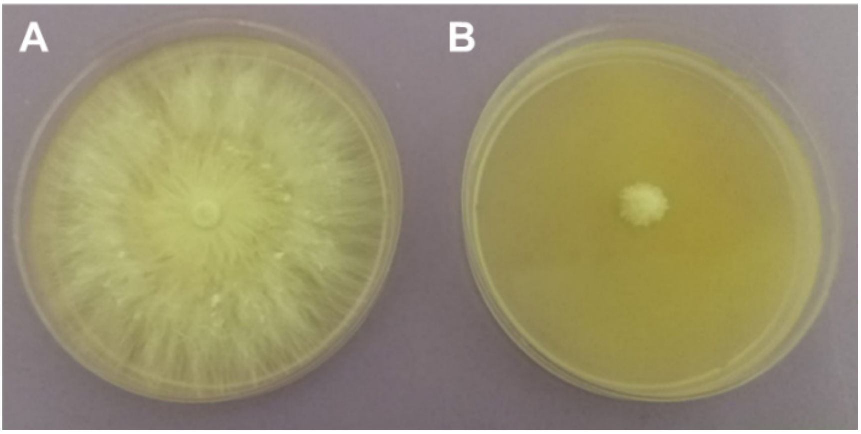


Figura 9: inhibición del crecimiento micelial de *Sclerotium rolfsii*. A) Tratamiento testigo. B) Inhibición de *S. rolfsii* en medio de cultivo PDA suplementado con 0.015% de quitosano.

Adicionalmente a la capacidad de inhibición este biopolímero posee otras cualidades como lo son; mejorar los procesos de germinación de las semillas, mejorar la adsorción de microelementos, induce los mecanismos de defensa de las plantas y la formación de barreras físicas (López-Corona *et al*., 2019), es compatible con microorganismos benéficos, estimulando su desarrollo (Fig. 10), como lo demuestra Rautela *et al*., (2019) quienes comprobaron la compatibilidad del quitosano con *T. asperellum*, al mezclar quitosano con *Trichoderma*, este último multiplico su producción de enzimas y metabolitos secundarios. Por su parte Rodríguez-Romero *et al*., (2019) mediante prueba de inhibición *in vitro* utilizando una mezcla de quitosano mas extractos de *Pseudomonas fluorescens* en contra de *A. alternata* lograron una inhibición del 60.2% del crecimiento micelial y una inhibición del 100% de la germinación esporas. De manera similar Hernández-Domínguez *et al*., (2021) inhibieron el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* al combinar quitosano con

metabolitos secundarios de *Trichoderma parareesei*.

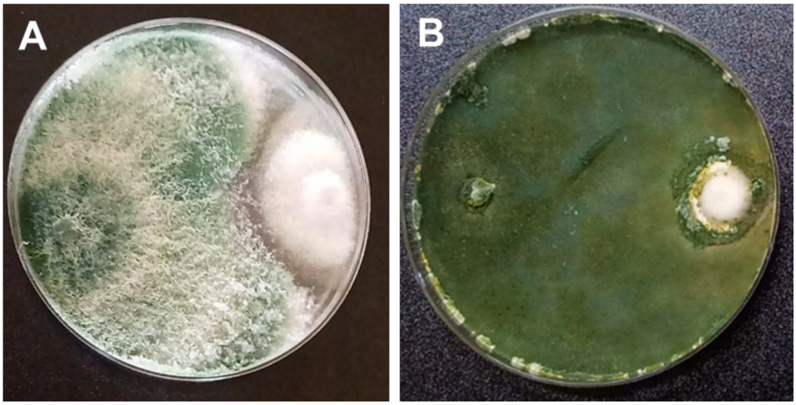


Figura 10: Combinación de *Trichoderma harzianum* y quitosano para la inhibición *in vitro* de *Fusarium oxysporum*. A) tratamiento testigo, *T, harzianum* en contra de *F. oxysporum*. B) tratamiento con quitosano mas *T. harzianum* en contra de *F. oxysporum* (notese un mayor desarrollo de *T. harzianum* y una mayor inhibición de *F. oxysporum* en comparación con el tratamiento testigo).

CONCLUSIONES

Los microorganismos antagonistas son una alternativa al uso de agroquímicos para el control de los fitopatógenos causantes de la secadera del chile, los cuales han demostrado una buena eficacia para el control de los fitopatógenos causantes de esta enfermedad a nivel de laboratorio y en campo. Adicionalmente al uso de microorganismos antagonistas también existen otras alternativas como lo es el uso de compuestos de origen natural como los extractos vegetales y el quitosano el cual ha demostrado buenos resultados para el control de diversos fitopatógenos, además, de ser compatible con microorganismos benéficos potencializando su capacidad antagonista. El empleo de estas alternativas de control posee otros beneficios adicionales al control de fitopatógenos como lo es, activar el sistema de defensa de las plantas y promover el crecimiento vegetal. Por tanto, el uso de estas alternativas biológicas es una buena opción para el manejo de esta enfermedad y a la vez contribuye en la disminución de riesgos de la salud y de contaminación ambiental.

REFERENCIAS

Albañil, J. J. A., Mariscal, A. L. A., Martínez, M. T. O., Anaya, L. J. L., Cisneros, L. H. C., & Pérez, R. H. A. (2015). Estudio regional de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 6(11), 2191-2197. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i11.797

Andrade-Hoyos, P., Luna-Cruz, A., Osorio-Hernández, E., Molina-Gayosso, E., Landero-Valenzuela, N., & Barrales-Cureño, HJ. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(6), 1259-1272. https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.13 26

Anaya- López, J. L., González- Chavira, M. M., Villordo- Pineda, E., Rodriguez- Guerra, R., Rodriguez- Martinez, R., Guevara- Gonzalez, R. G., Guevara- Olvera, L., Montero- Tavera, V., & Torres- Pacheco, I. (2011). Selección de genotipos de chile resistentes al complejo patogénico de la marchitez. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 2(3), 373- 383. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s2007-09342011000300006&lng=es.

Ariza, Y., Sánchez, L., (2012). Determinación de metabolitos secundarios a partir de *Bacillus subtilis* con efecto biocontrolador sobre *Fusarium* sp. Nova Publicación Científica en Ciencias Biomédicas, 10(18), 135 – 250. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702012000200002&lng=en&tlng=es

Asaka, O., & Shoda, M., (1996). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. Applied and environmental microbiology, 62(11), 4081-4085. https://doi.org/10.1128/aem.62.11.4081-4085.1996

Álvarez-García, J. A., Santoyo, G., & Rocha-Granados, M. C. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. Revista Latinoamericana De Recursos Naturales, 16(1), 01-10. http://revista.itson.edu.mx/ index.php/rlrn/article/view/286

Bautista, C. J., Huerta, L. M., García, E. R. (2014). Antagonistas a *Phytophthora capsici* inoculados en sustratos de germinación de *Capsicum annuum* Leonian y *Mucuna deeringiana* Bort. Avances en Investigación Agropecuaria, 18(2): 95-114. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=83731110007

Cedeño, L., Carrero, C., Quintero, K., Araujo, Y., Pino, H., & García, R. (2001). Identificación y virulencia de grupos de anastomosis de *Rhizoctonia solani* **kühn asociados con papa en** Mérida, Venezuela. Interciencia, 26(7), 296- 300. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442001000700005 &lng=es&tlng=es

De Granada, E. G., De Amezquita, M. C. O., Mendoza, G. R. B. & Zapata, H. A. V. (2001). Fusarium oxysporum el hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana. 6(1): 7-2. https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/ 63462

Díaz-Nájera, J. F., Vargas-Hernández, M., Ayvar-Serna, S., Alvarado-Gómez, O. G., Solís-Aguilar, J. F., Durán-Ramírez, J. A., Díaz-Ceniceros, H. L., & Hernández-Aguilar, A. (2014). Identificación morfológica y por PCR de *Rhizoctonia solani* **Kühn** a partir de frutos de calabaza pipiana y su manejo en invernadero. Biotecnia, 16(3), 17-21. https://doi.org/10.18633/bt.v16i3.107

Espinoza-Ahumada, C. A., Gallegos-Morales, G., Ochoa-Fuentes, Y. M., Hernández-Castillo, F. D., Méndez-Aguilar, R., & Rodríguez-Guerra, R. (2019). Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(23), 187-197. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2020

Gajera, H. P. y Vakharia, D. N. (2010). Caracterización molecular y bioquímica de aislados de *Trichoderma* que inhiben un hongo fitopatógeno *Aspergillus niger* Van Tieghem. Fisiopatología Fisiológica y Molecular de las Plantas. 74 (3), 274–282. https://doi.org/10.1016 /j.pmpp.2010.04.005

Gallegos-Morales, G., Espinoza-Ahumada, C. A., Figueroa-Reyes, J., Méndez-Aguilar, R., Rodríguez-Guerra, R., Salas-Gómez, A. L., Peña-Ramos, F. M. (2022). Compatibilidad de especies de *Trichoderma* en la producción y biocontrol de marchitez del chile. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios, 9(2), e3066. https://doi.org/10.19136/era.a9n2.3066

Gómez-Hernández, D., Carrillo-Rodríguez, JC., Chávez- Servia, JL., Perales-Segovia, C. (2018). Pathogenicity of *Phytophthora capsici* Leon and *Rhizoctonia solani* Khün, on seedlings of 'costeño' pepper (*Capsicum annuum* L.). Revista Bio Ciencias, 5(1), e356. http://dx.doi.org/10.15741/revbio.05.01.14

Godínez-Paoli, R., Leyva-Mir, S. G., García-Mateos, M. del R., Magdaleno-Villar, J., Cruz-Alvarez, O., & Martínez-Damián, M. T. (2020). Fungicidas, biocontroladores e inductores de resistencia en híbridos comerciales de pimiento morrón inoculados con *Phytophthora capsici*. Revista mexicana de fitopatología, 38(2), 258-268. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2002-1

González, M. A., Almaraz, S. J. J., Ferrera, C. R., Rodríguez, G. M. P., Taboada, G. O. R., & Trinidad, S. A. (2018). Rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares asociados con chile poblano en la Sierra Nevada de Puebla, México. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 9(20), 4355-4365. https://doi.org/10.29312/ remexca.v0i20.1004

Guerrero-Aguilar, B. Z., Pons-Hernández, J. L., González-Chavira, M. M., González-Pérez, E., Villalobos-Reyes, S., & Guerra, R. R. (2022). Variabilidad genotípica de aislados de Phytophthora capsici en Guanajuato. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 13(1), 181-190. https://doi.org/10.29312/remexca.v13i1.2982

Guillén, C. R., Hernández, C. F. D., Gallegos, M. G., Rodríguez, H. R., Aguilar, G. C. N., Padrón, C. E., & Reyes, V. M. H., (2006). *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* **Kühn y** *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología, 24(2), 105-114. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61224204

López-Corona, B. E., Mondaca-Fernández, I., Gortáres-Moroyoqui, P., Meza-Montenegro, M. M., Balderas-Cortés, J. J., Ruiz-Alvarado, C., & Rueda-Puente, EO. (2019). Enraizamiento de esquejes de Salicornia bigelovii (Torr.) por quitosano como un bioproducto de origen marino. Terra Latinoamericana, 37(4), 361-369. https://doi.org/10.28940/terra.v37i4.517

Hernández-Domínguez C., Vázquez-Moreno F., Cruz-Pantoja AJ., Orduño-Cruz N., Domínguez-Perales LA., & Vázquez-Cruz F. (2021). Effect of Chitosan and Metabolites of *Trichoderma parareesei* on *Fusarium oxysorum* growth. Revista Bio Ciencias, 8: 1- 10. https://doi.org/10.15741/revbio.08.e867

Hernández, J. J., Montes, B. R., Flores, M. H. E., Nava, J. R. A., Chanona, P. J. (2004). Caracterización de aislamientos de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en diferentes medios de cultivo. Revista Mexicana de Fitopatología, 22(3), 345-350. http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61222305

Hernández, M. C. A., & Herrera, I. L. (2014). Variabilidad cultural, morfológica y patogénica entre aislados de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en diferentes caracteres. Centro Agrícola, 41(1), 39-45. https://www.researchgate.net/publication/317044982

Hernández-Hernández, E. J., Hernández-Ríos, I., Almaraz-Suarez, J. J., López-López, A., Torres-Aquino, M., & Morales, F.F. J. (2018). Caracterización *in vitro* de rizobacterias y su antagonismo con hongos causantes del damping off en chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 9(3), 525-537. https://doi.org/ 10.29312/remexca.v9i3.335

Hernández, P. D., Díaz C. M., Quiñones R. R., Santos B. R., Portal G. N., & Herrera I. L. (2018). Control de *Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales. Revista Centro Agrícola, 45(2): 55-60. http://scielo.sld.cu/sci elo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852018000200008&lng=es&tlng=en

Islam, M. A, Nain, Z., Alam, M. K., Akhter, B. N., & Rezuanul, I. M. (2018). *In vitro* study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* ***against*** *Fusarium oxysporum* ***f. sp.*** *cucumerinum*. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 28(90): 1-11. https://doi.org/10.1186/s41938-018-0097-1

[a]Jiménez, C. A., Valadez, M. E., & Lozoya, S. H., (2018). Antagonismo de *Penicillium* sp. contra *Phytophthora capsici* (Leonian). Revista Fitotecnia Mexicana, 41(2), 137 – 148. https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.137-148

[b]Jiménez, MR, Arceo MMT., & Loeza LPD. (2018). Quitosano: actividad antimicrobiana y mecanismos de acción. *e-CUCBA*, 9, 17-23. https://doi.org/10. 32870/e-cucba.v0i9.98

Jiménez-Pérez, O., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F. D., Cepeda-Siller, M., & Espinoza-Ahumada, C. A. (2022). Characterization and pathogenicity of a *Pythium aphanidermatum* isolate causing 'damping off" in pepper seedlings. Mexican Journal of Phytopathology, 40(1). https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.21 09-3

Keller, S. A., Levandoski, J. O. D. R., Pereira, B. G. A., Klack, J. C. S. B., & Gomes, D. S. V. (2020). Effect of chitosan on the mycelial growth of *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma* spp. Atas saúde ambient. 8, 34- 44. file:///C:/Users/c_jim/Downloads/2107-7792-1-PB%20(1).pdf

Larios, E. J. L., Nava, J. D. J. W. V., Cupul, W. C., López, F. A. G., Sánchez, G. M., & Nava, M. T. B. (2019). Biocontrol de Damping off y promoción del crecimiento vegetativo en plantas de *Capsicum chinense* (Jacq) con *Trichoderma* spp. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas.10(3): 471-483. http://dx.doi.org/10.29312/ remexca.v10i3.332

Mejía-Bautista, M. Á., Reyes-Ramírez, A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J. M., Borges-Gómez, L. C., & Pacheco-Aguilar, J. R. (2016). *Bacillus* spp. en el Control de la Marchitez Causada por *Fusarium* spp. en *Capsicum chinense*. Revista mexicana de fitopatología, 34(3), 208-222. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1603-1

Mesa-Vanegas, A. M., Marin, A., & Calle-Osorno, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. Actualidades Biológicas, 41(111), 32-44. https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02

Morán- Bañuelos, S. H., Aguilar- Rincón, V. H., Corona-Torres, T., & Zavaleta- Mejía, E. (2010). Resistencia a Phytophthora capsici Leo. de chiles nativos del sur de Puebla, México. Fitotecnia Mexicana, 33(4), 21- 26. https://www.redalyc.org/ articulo.oa?id=61014255004

Palma- Martínez, M., Aguilar- Rincón, V. H., Corona-Torres, T., & Gómez-Rodríguez, O. (2017). Resistencia a *Phytophthora capsici* leo. en líneas de chile huacle (*Capsicum annuum* L.). Fitotecnia Mexicana, 40(3): 359- 363. https://www.r esearchgate.net/profile/Olga-Gomez-Rodriguez/publication/320134687_Resistanc e_to_Phytophthora_capsici_leo_In_huacle_pepper_Capsicum_annuum_L_lines/links/5b11796eaca2723d997aa76e/Resistance-to-Phytophthora-capsici-leo-In-huacle-pepper-Capsicum-annuum-L-lines.pdf

Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., Enríquez, V. R., & Villegas-Aparicio, Y. (2017). Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en Valles Centrales de Oaxaca. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 8(2), 281-293. https://doi.o rg/10.29312/remexca.v8i2.50

Ramos, S. R. U., Gutiérrez, S. J. G. Rodríguez, G. R., Salcedo, M. S. M., Hernández, L. C. E., Luna, O. H. A., Jiménez, B. J. F., Fraire, V. S., & Almeyda, L. I. H., (2010). Antagonismo de dos Ascomicetos Contra *Phytophthora capsici* Leonian, Causante de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología, vol. 28, núm. 2, pp. 75-86, Sociedad Mexicana de Fitopatología, A.C.

Rautela, A., Dwivedi, M., Tewari, A. K., & Kumar, J. (2019). Enzymatic activity and secondary metabolite profile of *Trichoderma asperellum* in presence of chitosan. Indian Phytopathology, 72(3), 437- 444. https://doi.org/10.1007/s42360-019-00158-1

Retana, K., Ramírez, C. J. A., Castro, O. & Blanco, M. M. (2018). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* f. sp. apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. Agronomía Costarricense.42(1):115-126. https://doi.org/ 10.15517/RAC.V42I1.32199

Reyes, T. A., Quiñones, A. E. E., Rincón, E. G., & López, P. L. (2016). Micorrización en *Capsicum annuum* L. para promoción de crecimiento y bioprotección contra *Phytophthora capsici* L. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(4), 857-870. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-0934201600040 0857&lng=es&tlng=es

Reyes-Tena, A., Rodríguez-Alvarado, G., Fernández-Pavía, S. P., Pedraza-Santos, M. E., Larsen, J., Vázquez-Marrufo, G. (2021). Morphological characterization of *Phytophthora capsici* isolates from Jalisco and Michoacán, Mexico. Mexican Journal of Phytopathology 39(1): 75-93. https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2007-5

Robles-Hernández, L, Hernández-Huerta, J, González-Franco, AC, Hernández-Rodríguez, OA, Núñez-Barrios, A, & Pérez-Leal, R. (2015). Streptomyces PRIO41 como promotor de crecimiento en plantas de chile jalapeño y agente de control biológico de Fusarium. Phyton (Buenos Aires), 84(2), 253-261. http://www.scielo.or g.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572015000200001&lng=es&tlng= es.

Rodríguez, G. C. A., Buitrago, J. E., Betancurt, A. D., & Lara C. R., (2017). Actividad antagonista de *Bacillus* sp frente a *Fusarium oxysporum*: un aporte a la agricultura sostenible. Revista Nova, 3, 9- 19. https://doi.org/10.23850/25004476.1515

Rodríguez-Romero VM., Villanueva-Arce R., Trejo-Raya AB. (2019). Quitosano y extractos de *Pseudomonas fluorescens* para el control de *Alternaria alternata* en jitomate (*Solanum lycopersicum*). Revista mexicana de fitopatología, 37(2): 202-219. https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1812-2

Rodríguez-Guerra, R., Reyes-Castillo, F., Ledesma-Bravo, B., Calderón-Ruiz, A., Armijo-Martínez, L. F., & Ruiz-Amaro, C. J. (2020). Diversidad en suelo y antagonismo de actinobacterias contra *Sclerotium rolfsii*. Biotecnología y Sustentabilidad, 5(1), 19-36. https://doi.org/10.57737/biotecnologiaysust.v5i1.925

Sánchez-García, BM., Ramírez-Pimental, JG., Guevara-Acevedo, LP., Raya-Pérez, JC., Covarrubias-Prieto, J., & Mora-Avilés, MA. (2019). Actinobacterias con potencial antagónico *in vitro* a hongos fitopatógenos y promoción del crecimiento en plantas de chile. Revista mexicana de ciencias agrícolas, 10(23), 339- 344. https://doi.org/10.29312/remexca.v0i23.2033

SIAP. (2020). Panorama agroalimentario. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publi caciones_siap/pag/2020/Atlas-Agroalimentario-2020

SIAP. (2021). Panorama Agroalimentario. https://nube.siap.gob.mx/gobmx_publica ciones_siap/pag/2021/Panorama-Agroalimentario-2021

SIAP. (2022). Anuario Estadístico de la Producción Agrícola 2021. https://nube.siap .gob.mx/cierreagricola/

Tejera, H. B., Rojas, B. M. M., & Heydrich, P. M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 42(3), 131-138. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1812/181222321004

Terrones, G. (2018). Efecto antifúngico del extracto etanólico de frutos secos de *Capsicum annuum* var. annuum "pimentón" sobre el crecimiento de *Alternaria solani*, *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus niger*. Sagasteguiana, 1(2), 31-40. https://revistas.unitru.edu.pe/index.php/REVSAGAS/ article/view/1794

Tucuch-Pérez, M. A., Bojórquez-Vega, J. J., Arredondo-Valdes, R., Hernández-Castillo, F. D., Anguiano-Cabello, J. C. (2021). Actividad biológica de extractos vegetales del semidesierto mexicano para manejo de *Fusarium oxysporum* de tomate. Ecosistemas y Recursos Agropecuarios 8(2): e2745. https://doi.org/ 10.19136/era.a8n2.2745

Valero, G. J., González, D. C. A., González, F. R. (2014). Efecto de los extractos acuosos de hojas de plantas de gobernadora (*Larreas tridentata*), hojasen (*Flourensia cernua*) y encino (*Quercus pungens*), sobre el crecimiento micelial *in vitro* de hongos fitopatógenos. Acta Universitaria, 24(5), 13-19. https://doi.org/10.15174.au.2014.630

Velásquez, V. R., Medina, A. M. M., & Luna, R. J. de J. (2001). Sintomatología y Géneros de Patógenos Asociados con las Pudriciones de la Raíz del Chile (*Capsicum annuum* L.) en el Norte-Centro de México. Revista Mexicana de Fitopatología, 19(2), 175-181. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61219207

Velásquez, V. R., Amador, R. M. D., Medina, A. M. M. & Lara, V. F. (2007). Presencia de Patógenos en Almácigos y Semilla de Chile (Capsicum annuum L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 25(1):75-79. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-3309200700 0100010&lng=es&tlng=

Velásquez, V. R., Reveles, H. M. y Reveles, T. L.R. (2014). Manejo de enfermedades de los almácigos tradicionales de chile, para secado en Zacatecas. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Zacatecas. Folleto Técnico. Núm 54. CIRNOC –INIFAP, 28 pp. http://www.zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/manejoEAlmacigosChile.pdf

Velásquez-Valle, R., & Reveles-Torres, LR. (2017). Necrosis foliar; nuevo síntoma asociado a la pudrición de la raíz de chile (*Capsicum annuum*) en Durango y Zacatecas, México. Revista mexicana de micología, 46, 47-53. https://doi.org/10.33885/sf.2017.46.1176

Villanueva, D. M. L. (2018). Eficacia de biofungicidas frente a la caída de plántula de pepino, inducida por *Pythium aphanidermatum*. Revista de Investigación en Agroproducción Sustentable, 2(1), 72-78. https://doi.org/10.25127/aps.201801.257

Villarreal, D. M. F., Villa, R. E. D., Cira, C. L. A., Estrada, A. M. I., Parra, C. F. I. & Santos, V. S. D. L. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. Revista Mexicana de Fitopatología. 36(1), 95-130. http://dx.doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5

CAPÍTULO 17

RETOS DE INNOVACIÓN EN LA CADENA PRODUCTIVA DE LA PANELA

Data de aceite: 19/07/2022

Jaime Vente Garces
Administración de Empresas Agropecuarias, Fundación Universitaria de Popayán
Popayán, Cauca, Colombia
https://orcid.org/ 0000-0003-4492-8540

Derly Tatiana Marin Tosne
Administración de Empresas Agropecuarias, Fundación Universitaria de Popayán
Popayán, Cauca, Colombia
https://orcid.org/ 0000-0002-2219-1042

Damar Daniela Valencia Hernández
Administración de Empresas Agropecuarias, Fundación Universitaria de Popayán
Popayán, Cauca, Colombia
https://orcid.org/ 0000-0002-4941-0874

RESUMEN: El artículo describe la caracterización de agro-cadenas paneleras del Cauca, mediante la revisión de innovaciones desarrolladas en la cadena productiva colombiana. La investigación se desarrolla en tres etapas, inicialmente, se describen las problemáticas en los distintos eslabones; como la producción, prácticas culturales que realizan los productores de caña de azúcar, la transformación que hace énfasis en los trapiches paneleros artesanales y la comercialización donde se puntualiza en la presentación de la panela al consumidor final. En la segunda parte, se dan a conocer las nuevas tecnologías e innovaciones en la producción de panela, respecto al manejo del cultivo, mejoras en los trapiches, aprovechamiento de los residuos, instrumentos utilizados en el proceso, los cuales facilitan al productor mejorar su productividad y calidad de la panela. Finalmente, se plantean los retos que debe asumir el sector panelero referente a la capacitación de los productores, esto con el fin de permitirles hacer uso de las nuevas tecnologías, así mismo, la conformación de redes y fomento de la asociatividad para mejorar la inversión en aspectos productivos, sociales y ambientales, generando un desarrollo económico optimo a los productores de panela del Cauca.

PALABRAS CLAVE: Cadena productiva, panela, innovación, tecnologías, competitividad

CHALLENGES OF INNOVATION IN THE PRODUCTIVE CHAIN OF THE PANELA

ABSTRACT: The article describes the characterization of agro-chains paneleras of Cauca, through the review of innovations developed in the Colombian productive chain. The research is developed in three stages, initially, the problems are described in the different links; such as production, cultural practices carried out by sugarcane producers, the transformation that emphasizes the artisanal panelling trapiches and the commercialization where it is specified in the presentation of the panela to the final consumer. In the second part, new technologies and innovations in panela production are presented, regarding crop management, improvements in trapiches, waste management, instruments used in the process, which facilitate the producer to improve its productivity and panela quality. Finally, there are the challenges that the panelist sector must face in terms of training producers, in order

to enable them to make use of new technologies, Likewise, the formation of networks and the promotion of associations to improve investment in productive, social and environmental aspects, generating optimal economic development for panela producers in Cauca.
KEYWORDS: Production chain, panela, innovation, technologies, competitiveness.

INTRODUCCIÓN

La panela es un producto obtenido por la deshidratación de jugos de caña de azúcar, de carácter artesanal comúnmente clasificado como azúcar de caña no-centrifugado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), destacando que no incluye la etapa de centrifugación en donde se retiran compuestos fenólicos, minerales, vitaminas y micronutrientes, los cuales permanecen en ella confiriéndole ventajas nutricionales (ALARCÓN, 2017).

> En la actualidad, la India es el primer productor de panela del mundo con 7,5 millones de toneladas, en el segundo lugar se encuentra Colombia, generando 1.5 millones de tonelada por año con mano de obra campesina, igualmente, brinda cerca de 25 millones de jornales, vinculando en alrededor de 350.000 personas, es decir, el 12 % de la población rural económicamente activa, siendo el segundo renglón generador de empleo después del café, y su aporte al Producto Interno Bruto (PIB) es del 7,3 % del total aportado por el sector agrícola y Colombia destaca como el primer consumidor, con un promedio de 34.2 kg al año por persona (COBOS, et al. 2014, p. 18-23).

La producción de panela en el país es a pequeña escala con fincas que pueden variar entre 1 a 3 hectáreas, aproximadamente con 20.000 trapiches establecidos, alrededor de 70.000 familias productoras, integradas por grupos familiares y comunitarios; aunque, la operación de estos trapiches no ha logrado grandes variaciones tecnológicas a lo largo de los años, los productores, han pretendido solucionar las pérdidas en la extracción de jugo, clarificación del jugo, incrementar la eficiencia en la evaporación del jugo, mejorar la calidad en empaque y presentación del producto final (RAMÍREZ y RODRÍGUEZ, 2016).

Actualmente, en el sector panelero se evidencian problemas de gestión y mejoras tecnológicas para propiciar y dinamizar el proceso productivo, incrementar la competitividad de la empresa apoyada en la calidad, desarrollo científico, tecnológico, administrativo y social. Pero busca establecer y desarrollar plataformas para la exportación, mediante procesos de capacitación, asistencia técnica, investigación de mercados, alianzas y negociación con compradores potenciales. Lo cual permitirá producir más y con mejor calidad en el campo, incorporando segmentos cada vez mayores a la cadena de valor para mejorar sus ingresos. Sin lugar a dudas, este sector no podrá desarrollarse sino se fortalece el principal punto débil, la tecnología. En este sentido, se busca desarrollar procesos seguros y eficientes, en equilibrio con el medio ambiente (QUEZADA et al, 2017).

Los productores de panela deben optar por introducir nuevas tecnologías e incorporar la innovación para mejorar los procesos tradicionales y disminuir la contaminación

ambiental, implementar sistemas agroindustriales de asociatividad, el desarrollo de productos diferenciados, la promoción del consumo de panela y sus derivados, así mismo el enfoque de esfuerzos a favor de una evolución en el mercado además de tener mayores avances en investigación, desarrollo, la innovación, transferencia tecnológica (GUTIÉRREZ et al, 2018).

En este contexto, el objetivo del artículo es realizar una revisión de las innovaciones desarrolladas en la cadena productiva de la panela en Colombia, dando a conocer las necesidades de innovación en los diferentes eslabones de producción, transformación y comercialización, donde se plantean retos que el sector panelero debe asumir para ser competitivo.

NECESIDADES DE INNOVACIÓN EN LA CADENA PRODUCTIVA DE LA PANELA

La caña de azúcar para producción de panela en Colombia

Actualmente, India, Colombia, Pakistán y China, son países líderes en su producción de panela, en Colombia existen cerca de 70.000 unidades cultivadas y 22.000 productoras, que generan 1.5 millones de toneladas de panela por año (ALARCÓN, 2017).

La producción de panela es una de las principales actividades agrícolas de la economía colombiana, entre otras razones, por su participación significativa en el producto interno bruto (PIB) (LEGUIZAMON y YEPES, 2013), la mayor producción proviene de departamentos como Santander, Boyacá, Cundinamarca, Antioquia y Nariño, y en porcentaje bajo en el resto del territorio nacional, de allí que este producto se constituye en la economía básica de 236 municipios, pertenecientes a 12 departamentos (AMADO y PINZÓN, 2016).

Actualmente el sector panelero en Colombia presenta problemas relacionados con bajos niveles tecnológicos y estándares de calidad, débil cultura organizativa y asociativa, baja capacidad de articulación de actores en organización gremial y acceso precario a mercados, la estacionalidad de la producción y la competencia con el azúcar como producto sustituto que inciden en los precios de venta, igualmente, la comercialización de la panela falsificada y el contrabando (RAMÍREZ y RODRÍGUEZ, 2016).

En Colombia la panela es generada por economía campesina en unidades de pequeña escala, con alto uso de mano de obra y bajos niveles de inversión tecnológica, simultáneamente, existen explotaciones medianas con mayor grado de tecnificación y algunas de mayor escala que tienen índices de productividad, beneficios más altos (FLÓREZ, 2018). Así mismo, los productores tienen un nivel de escolaridad bajo y pocos cuentan con estudios de secundaria o profesional (CUEVA et al. 2017, p. 481 – 501).

El sector panelero colombiano adolece de un sistema de información básico en tiempo real, sobre la estructura de las fincas, trapiches paneleros, el desempeño técnico y

socioeconómico de los productores de caña de azúcar y de panela (RAMÍREZ y ARENAS, 2016), por consiguiente, los trapiches de pequeña y mediana escala, implementan el proceso tradicional que tiene como fuente de calor, humos de combustión del bagazo en hornillas, mientras que, los de gran escala han implementado el proceso de capacidad calorífica de evaporización del agua en evaporadores (ALARCÓN, 2017).

La cadena productiva de la panela

La panela en términos generales, es un producto obtenido por la deshidratación de jugos de caña de azúcar, es artesanal y comúnmente clasificado como azúcar de caña no-centrifugado por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO), destacando, por tanto, que no incluye la etapa de centrifugación en donde se retiran compuestos fenólicos, minerales, vitaminas y micronutrientes, los cuales permanecen en ella confiriéndole ventajas nutricionales (ALARCÓN, 2017).

Dentro de la cadena productiva de la panela se identifican cinco eslabones: proveedores, cultivadores, procesadores, comercializadores y clientes. El tercer eslabón está integrado mayoritariamente, por pequeñas unidades agroindustriales, trapiches cooperativos, organizados en empresas asociativas de trabajo, y algunas empresas maquiladoras, del mismo modo, que ocurre en India (GUERRERO y ESCOBAR, 2015).

La producción incluye procesos que van desde la preparación del terreno hasta la cosecha de la caña de azúcar (preparación, siembra, fertilización, limpia, aporca y corta, respectivamente). Estas prácticas se realizan tanto en forma mecánica como manual (ARIAS y VALENCIANO, 2017), en este sentido, también se presenta ineficiencia en prácticas de manejo y aprovechamiento de residuos, lo cual se traduce en pérdidas energéticas, desaprovechamiento de los recursos naturales e impactos nocivos sobre el medio ambiente (GUERRERO y ESCOBAR, 2015).

Los cultivos de caña de azúcar destinados a la producción de panela en Colombia, utilizan variedades denominadas tradicionales o de vieja introducción, por la escasa disponibilidad de semilla de calidad, la baja adopción de tecnología en la producción de material vegetal de propagación, el desconocimiento de la normatividad, la deficiencia de programas y políticas de fomento (MURCIA y RAMÍREZ, 2017). Respecto a la preparación de suelos se eliminan las malezas y crean las condiciones para el posterior desarrollo de la plantación, las características se determinan en función del relieve, el clima y los suelos. En torno a este panorama, surge la necesidad de desarrollar estrategias que mejoren la sostenibilidad de los cultivos para la disminución de las dosis de fertilizantes o mejorar la disponibilidad de nutrientes a base de productos orgánicos (RODRÍGUEZ et al, 2014).

La fitosanidad en zonas paneleras está afectada por la presencia esporádica de insectos comedores y chupadores de follaje; normalmente se encuentran en poblaciones bajas, ya que, tienen numerosos enemigos naturales, pero los barrenadores del género (*Diatraea Saccharalis*) actúan como el principal causante de daños en la producción de la

caña en Colombia (LÓPEZ, 2015).

Existen diferencias de producción en las zonas paneleras de Colombia, derivadas de las prácticas de manejo, sistemas de siembra, planes de fertilización, control de plagas, enfermedades, manejo de arvenses, renovación de lotes y sustitución de variedades tradicionales, lo cual, ha incidido en los rendimientos por unidad de área tanto en caña como en panela (LEAL, 2017).

La cosecha se inicia con el corte, y existen dos tipos: por parejo, donde la caña de azúcar es cortada con maquinaria y utilizada en cultivos tecnificados que realizan la siembra a chorrillo (RESTREPO, 2013), mientras que, el entresaque o desguíe consiste en un corte manual, con base en el criterio del agricultor para identificar cañas maduras, por otro lado, en el alce y transporte se recogen los tallos cortados y se llevan al sitio de recepción mediante animales de carga o camiones (SANTÍN, 2018).

En el proceso de transformación se utiliza, de una parte, el sistema de trapiche tradicional, que constituye unidades de extensión de caña propia y procesan principalmente cañas provenientes de sus sembradíos y de los vecinos, estos poseen dotación física tradicional. Y, de otra, el sistema de trapiche avanzado, el cual se compone únicamente por una unidad productiva, en función de la moderna dotación de recursos físicos, tecnología de producción e innovadores procesos agroindustriales y de administración (RAMÍREZ y ARENAS, 2016).

En la extracción de jugos se inicia con la molienda de la caña, la cual es pasada a través de una serie de rodillos para extraer su jugo, como residuo se obtiene bagazo, que por tratarse de trapiches tradicionales debe ser secado, para luego ser utilizado como combustible, puesto que, en la mayoría de las fincas paneleras se quema en hornos artesanales, debido al gran poder calorífico del bagazo (ORDOÑEZ y RUEDA, 2017).

> Uno de los elementos que afecta la calidad de la caña es el desfase, esto indica que, la caña cosechada no ha llegado o ha sobrepasado el momento de su madurez óptima, lo que afecta la composición del jugo en cuanto a calidad para proceder al moldeo (DELGADO et al. 2016, p. 59 - 65).

Procedimiento donde las mieles son trasladadas a celdas de madera, en los cuales se lleva a cabo su solidificación y obtención del producto final. Una vez solidificado, el producto se desmolda y se empaca en cajas de cartón, madera o en bolsas plásticas; para proceder a su almacenamiento y posterior venta (ORDOÑEZ y RUEDA, 2017).

La agroindustria panelera, por lo tanto, desempeña un papel trascendente en el desarrollo rural y es la de mayor tradición en América Latina y el Caribe (QUEZADA et al, 2016), cabe agregar que la caña es un cultivo de largo plazo, que puede durar de 8 a 12 años y se pueden realizar entre 8 a 12 cosechas (JURADO, 2015).

En el proceso de comercialización, es fundamental el proceso de empacado, este depende de su destino final, por lo general, el mercado se realiza de manera local como en tiendas y supermercados, donde es empacada en bolsas de papel y asegurada con cabuya

para evitar que la bolsa quede suelta, el principal inconveniente es que la panela queda propensa a deteriorarse por golpes o efectos de la lluvia (RESTREPO, 2013).

> Respecto a la presentación para mercado, se destaca que tradicionalmente se encuentra de forma redonda y cuadrada, de esta manera, las características del producto comercial (panela cuadrada) no responden a los requerimientos de los consumidores finales (nacionales e internacionales), quienes buscan productos de fácil disolución y preparación rápida y/o instantánea (PALACIOS et al. 2016, p. 34)

Sin embargo, la panela granulada ha sido la más aceptada, la justificación es porque el ritmo de vida actual acelerado no permite la preparación convencional de la panela, puesto que, gran parte de los consumidores buscan productos de buena calidad y de fácil preparación (ROJAS, 2014).

Una de las problemáticas identificadas en la cadena productiva es el desconocimiento de los costos de producción por parte de los agricultores, quienes conocen el proceso técnico, como cantidad de los distintos materiales o insumos necesarios por cada unidad producida, pero se dificulta dar un precio acertado del producto (VALERO, et al 2014), esto afecta la evaluación de productividad y competitividad del producto frente al mercado.

TECNOLOGÍAS E INNOVACIONES EN LA CADENA PRODUCTIVA DE LA PANELA

> La innovación está relacionada con crear o adaptar un producto o proceso e introducirlo exitosamente en el mercado, de forma que, aporte soluciones prácticas a las necesidades nacionales y regionales. Siendo este uno de los principales motores de desarrollo y aplicable a todas las actividades económicas (ROLDÁN et al. 2017, p. 15-28).

Por consiguiente, el cambio hacia tecnologías limpias en la producción, representa una innovación global en el proceso del cultivo y el procesamiento con importantes implicaciones para la conservación del medio ambiente y para la rentabilidad del proceso productivo (SÁNCHEZ, 2016).

> Inicialmente se presentan innovaciones respecto a la forma de presentación de la panela, resaltando el cambio en la naturaleza del producto final, de ser solida a granulada, mezcladas con leche en polvo, con quinua, avena siendo esta de mayor valor en el mercado lo cual permite generar mayor rentabilidad de la panela (CASTELLANO et al. 2016, p. 15-28).
>
> En la producción primaria, una de las principales innovaciones encontradas, es la tecnología de producción de plantas a partir de la extracción de yemas desarrolladas en Cenicaña y ajustada en la sede Cimpa de Agrosavia, para las condiciones del subsector panelero de Colombia, el cual se implementó, en primera instancia, en la zona productora conocida como la hoya del río Suárez en Boyacá y Santander (LÓPEZ et al. 2016, p. 41-45).
>
> Los controladores biológicos utilizados en países como la India que se caracteriza por manejar cultivos extensivos, están enfocados innovadoramente

> al uso de aves rapaces, y responden a un problema fitosanitario que afecta al cultivo, como los roedores, que atacan principalmente la base del tallo de las plantas, ocasionando pérdidas significativas (LÓPEZ et al. 2017, p. 23-49).
>
> Respecto al aprovechamiento de los subproductos, se destacan los tratamientos con presencia de cachaza, enriquecidos con micorrizas y Azotofos con o sin adición de roca fosfórica, evidenciando reservas de P en suelos, que pueden solubilizarse y estar a disposición de las plantas de caña (PALMA et al. 2016, p. 29-34).
>
> La producción mundial del bagazo de caña en 2016 fue de 234 millones de toneladas, este estudio demostró la posibilidad de obtener celulosa a partir de desechos agroindustriales de bagazo de caña de azúcar, aplicando un tratamiento químico de hidrólisis ácida (sulfúrica) a las fibras de celulosa (LÓPEZ et al. 2016, p. 41-45).

Otros subproductos obtenidos del proceso, son la cachaza y la ceniza, los cuales son adecuados para ser utilizados como materia prima en la elaboración de compost, ya que, muestran indicadores positivos de calidad en la fertilización orgánica de cultivos (LÓPEZ et al. 2017, p. 23-49). De igual forma, se están utilizando residuos agroindustriales de la caña de azúcar mezclados con diferentes tipos de estiércol para la obtención de sustratos orgánicos por medio del vermicompostaje, en condiciones semi controladas, utilizando la lombriz roja californiana (PALMA et al. 2016, p. 29-34). También, se están empleando mucílagos naturales tales como el de corteza de cacao y de muyuyo (*Cordia Lutea)* durante el proceso de clarificación del jugo de caña de azúcar para disminuir los residuos del proceso agroindustrial (DEMERA et al. 2015, p. 51-61).

En las pruebas realizadas con poliamida para empacar panela pulverizada, se encontró que dicho material permite conservar todas las propiedades, pues sus características de barrera favorecen alta impermeabilidad ante los gases y organismos microbiológicos; e incluso es resistente a la perforación, soportando entornos calurosos mayores a la temperatura ambiente en el proceso de comercialización de la panela (LIZARAZO et al, 2014).

Con respecto a la maquinaria, el cambio más notable es la sustitución de los molinos de madera o de piedra movidos por tracción animal, por molinos movidos por motores de combustión interna o eléctrica (MORALES et al, 2017). En este sentido el modelo CIMPA comprende el trapiche mecánico movido por motor eléctrico o combustible (gasolina-ACPM), hornilla mejorada que agiliza el proceso de evaporación y utiliza como combustible el bagazo de la misma caña (TENORIO, 2016). Debido a que, la panela es un producto que se elabora de forma artesanal, se han implementado pailas que constan de dos partes: el fondo y las falcas. El fondo contiene el jugo, y las falcas aseguran que la espuma de los jugos producto de la ebullición no se (SANTÍN, 2018).

En la producción de panela se han implementado materiales e instrumentos como el pH-metro para la medida de la acidez en los jugos durante el procesamiento, termómetro para la medida de la temperatura del jugo en las pailas, higrómetro para registrar la

temperatura y la humedad relativa, cronómetro digital, porta-muestras esterilizados para jugos, mieles y panela granulada, cooler para el transporte de las muestras con bolsas refrigerantes congeladas (SANTÍN, 2018). Adicionalmente, se utiliza batidora utilizada para obtener panela pulverizada o granulada donde el envasado se realiza mecánicamente (TENORIO, 2016), con referencia a lo anterior, las tecnologías actuales de granulación han dado respuesta a los requerimientos de nichos de mercado por el creciente interés de obtener endulzantes naturales en polvo (ROJAS, 2014), de la misma manera se usa la tecnología de elaboración de cubos saborizados (ESCOBAR, 2014).

> Se han implementado bolsas de poliolefina para empacar panela de exportación, de manera individual, las cuales son cerradas por acción de la máquina de sellado y posteriormente, introducidas al túnel de termoencogido, donde son rotuladas y con la envoltura que cumple con la normatividad exigida (PALACIOS, et al. 2016, p. 34).

Igualmente, se ha logrado establecer un flujograma de corte para la cosecha mecanizada en campos de alta humedad, dando información necesaria para realizar el corte de manera organizada y con mejores resultados, partiendo de la planificación de la estrategia de corte, las producciones y rendimientos cañeros por bloques y mediante la utilización de un sistema de información geográfico (MAPINFO) (DAQUINTA et al, 2018).

El cultivo de caña de azúcar, también, se constituye como el producto de biomasa y biocombustibles de mayor importancia en términos de energía renovable (bagazo y puntas de tallo) (DEBERNARDI et al, 2016), para la producción de etanol a través de los carbohidratos solubles de los tallos de la caña y a partir de los biopolímeros del bagazo, en combinación de tecnologías 1G y 2G (ROLZ, 2017). En este mismo orden, a partir de la cera de caña de azúcar se ha obtenido el D-003, ingrediente farmacéutico activo purificado con efectos como reductor del colesterol y antioxidante (MARRERO et al. 2013, p. 389-399).

En este contexto, el cambio de tecnología permite implementar trapiches sostenibles con el medio ambiente y que cumplan con los requerimientos indicados en la Normatividad Sanitaria, lo cual contribuye a obtener producción constante y de excelente calidad, siguiendo los parámetros establecidos por el Invima (CAMPOS y ENRÍQUEZ, 2018). Sin embargo, el factor económico impide la financiación para realizar actividades agrícolas y de transferencia de tecnología (ALARCÓN, 2017), en consecuencia, es necesario optar por la producción orgánica, con su debida certificación, a pesar del alto costo del sello por parte de organizaciones internacionales reconocidas especialmente europeos, pero es este uno de los requerimientos de los compradores internacionales en términos de calidad y especialmente de volumen (SÁNCHEZ, 2016).

Otro aspecto importante en la producción de panela, es el escaso control de desempeño en los empaques en la calidad requerida para la comercialización, donde ha surgido la necesidad de optar por soluciones basadas en nuevas tecnologías de materiales

y estrategias de promoción de la panela, que debe incluir el estudio e implementación de presentaciones innovadoras, por ejemplo, uso de empaques atractivos que resalten la panela, informacion nutricional, beneficios, formas de consumirla, recetas, procedencias y denominaciones (VALERO, et al 2014).

Las tecnologías e innovaciones en la cadena productiva de panela, permiten que la producción sea más rápida y eficiente; con el uso de maquinaria mejorada e infraestructura que cumple con la normatividad sanitaria, de igual manera, facilita mejorar la calidad del producto (CAMPOS y ENRÍQUEZ, 2018). En este sentido, uno de los principales aspectos de resaltar en torno a la evolución tecnológica de la agroindustria panelera en Colombia ha sido la creación del Centro de Investigaciones para el Mejoramiento de la Industria Panelera –CIMPA, el cual ha desarrollado investigaciones referentes a innovaciones anteriormente mencionadas (VALLEJO, 2014). Cabe agregar que estas innovaciones implican riesgos debido al desconocimiento de los productores en aspectos claves para la producción primaria, el procesamiento y la comercialización del producto, como en la utilización de sistemas tecnológicos integrados que permite asimilar operativamente las técnicas, y consolidar los conocimientos y la organización necesaria para el manejo de la producción y comercialización (SÁNCHEZ, 2016).

RETOS EN LA CADENA PRODUCTIVA DE LA PANELA

El reto principal del desarrollo de las cadenas agroalimentarias, es el reconocimiento del potencial humano de la necesidad de aplicación de la filosofía de la integración en redes, para la mejora en los niveles de satisfacción de los clientes (AHUMADA, 2015).

> A pesar de las innovaciones encontradas en la cadena productiva de la panela, respecto a los trapiches paneleros, estos no han logrado grandes variaciones tecnológicas a lo largo de los años, los principales retos tecnológicos han pretendido solucionar eventos como las pérdidas en la extracción de jugo, limpieza y clarificación del jugo, incrementar la eficiencia energética en el sistema de evaporación del jugo, mejorar calidad y empaque (SABLÓN et al. 2016, p. 128-135).

La introducción de nuevas tecnologías permitirá el mejoramiento de los tradicionales procesos productivos; el desarrollo de productos innovadores y diferenciados que permitan una mayor competitividad; la consolidación de un tejido social de la cadena, que procure la focalización de esfuerzos adelantados en las regiones paneleras y evite la atomización de oferta y demanda, con condiciones inequitativas entre los diferentes eslabones de la cadena (FLÓREZ, 2013).

> De igual manera, es fundamental posibilitar el uso de las tecnologías de la información y la comunicación - TIC en la conservación de estas formas tradicionales para las nuevas generaciones y el desarrollo de procesos para el fortalecimiento de la identidad cultural local y regional (ARANA et al. 2015, p. 25-32).

El reto en la dimensión ambiental, es lograr una producción de panela sostenible y amigable con el medio ambiente, la cual genere diversos productos que aporten ingresos que favorezcan al pequeño productor mejorando su calidad de vida y el desarrollo de la región (BECERRA et al, 2016).

En el eslabón de comercialización es prioritario abordar con urgencia, la trazabilidad interna, atributo conectado a las características de composición y manipulación del producto, las operaciones de producción, las máquinas, técnicas y demás factores de la producción (RUGE y PÉREZ, 2017). Respecto a este tema, para expandir el acceso a mercado, se pueden utilizar estrategias como el análisis del comportamiento del consumidor, la exploración de receptores sensoriales, emociones y esquemas mentales que estimulan el proceso de decisión de compra de un consumidor (PARDO, 2016). De igual manera, estar preparados frente a la caída de precios de la panela, ya que, genera niveles poco rentables, ocasiona un desestimulo al cultivo de nuevas áreas, o que los cultivos de caña para panela no sean mantenidos en forma adecuada, que finalmente, provoca la disminución del rendimiento y de la producción (LEGUIZAMON y YEPES, 2013).

Para realizar cambios en la matriz productiva, es necesario que el sector agroindustrial realice esfuerzos adicionales para reducir en alto grado la dependencia de las exportaciones de productos primarios y se trabaje en un proceso de innovación y tecnología (VILLAREAL, 2017). Por esta razón, el sector panelero debe aprovechar los diversos recursos territoriales (saber-hacer), condiciones locales optimas de clima y suelo, y también, procesos de innovación tecnológica y organizacional, con base a las acciones colectivas, formas de relacionamiento local y territorial, conformación de redes y fomento de asociatividad**,** que contribuyan en la construcción de visiones compartidas en busca de soluciones grupales, para competir y unir esfuerzos en pro de fortalecer la unidad productiva (CARDONA et al, 2015).

CONCLUSIONES

Para mejorar la competitividad de la cadena productiva de la panela, es necesario realizar investigación, desarrollo e incorporación de nuevas tecnologías en los diferentes eslabones de la cadena, principalmente al eslabón de producción y transformación, los cuales presentan mayores retos. En este sentido, la innovación permitirá entrar en nuevos mercados que exigen competitividad y trabajo articulado, y puede lograrse por medio de la integración de redes agroempresariales que fortalezcan la organización de los productores y puedan tener ventaja competitiva.

El eslabón de comercialización es el cuello de botella para la mayoría de las cadenas productivas del país, lo que no es ajeno a la cadena productiva de la panela en la región; que también, presenta una amplia cadena de intermediación, generado por el bajo poder de negociación de los productores y la baja capacidad organizativa de los actores que

confluyen en la misma.

REFERENCIAS

AHUMADA GONZÁLEZ, J. **Efectos de la tecnología utilizada en la producción panelera en las transformaciones ambientales de la hoya del río Suárez**. Tesis para obtener el título de Magister en medio ambiente y desarrollo. Universitad Nacional de Colombia, Bogota, Colombia, 143p, 2015

ALARCÓN RODRÍGUEZ, A. **Estudio del comportamiento de propiedades fisicoquímicas, reológicas y térmicas de jugos y mieles de caña panelera**. Tesis para optar por el título de Magister en Ingeniería. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 127 p., 2017

AMADO SANTAMARÍA, C., PINZÓN PERÉZ, J. **Diseño de la implementación de una adaptación tecnológica basada en energía solar para la producción sostenible de panela en un trapiche del municipio de San Benito Santander**. Tesis para la especialización en gestión de proyectos de ingeniería, Universidad Distrital Francisco José de Caldas. Bogotá, Colombia, 66 p., 2016.

ARANA BERNAL, W., DONCEL LÓPEZ, G., CARDOZO, E., *et al*. **Rescate de la identidad y la memoria cultural asociada a la molienda de caña y la producción de panela, en la provincia del Gualivá, Villeta**. Revista Tecnología y Productividad, 2 (2), 25-32 p., 2015

ARIAS RAMÍREZ, J., VALENCIANO SALAZAR, J. **La cadena de valor de la panela y el fortalecimiento de la agricultura familiar en Costa Rica**. Abra, 37 (55), 1-13 p., 2017.

BECERRA QUIROZ, A., BUITRAGO COCA, L., PINTO BAQUERO, P. **Sostenibilidad del aprovechamiento del bagazo de caña de azúcar en el Valle del Cauca, Colombia**. *Ingeniería Solidaria*, 12 (20), 133-149 p., 2016.

CAMPOS VICTORIA, J., ENRIQUEZ PABON, J. **Criterios de implementación ISO 14000:2015**. Caso Estudio Sector Producción Panela. *Padlet*, 1-7 p, 2018.

CARDONA HENAO, J., HERNÁNDEZ VILLANUEVA, C., MOSQUERA RODAS, J. **Análisis sobre desarrollo administrativo y tecnológico de asociaciones agroindustriales, de servicios y financieras en municipios del departamento de Risaralda**. *Colección Académica de Ciencias Estratégicas*, 2 (2), 1-19 p., 2015.

CASTELLANOS GONZÁLEZ, L., ABREUS JIMÉNEZ, M., SILVA CAMPOS, C., *et al*. **Efecto de la adición de cachaza, roca fosfórica y biofertilizantes en el suelo sobre el contenido de fósforo y el desarrollo de plántulas de caña de azúcar**. *Cultivos Tropicales*, 37 (4), 145-151 p., 2018.

COBOS RAMÍREZ, L., APARICIO QUIÑONEZ, M., SOLANO, H., *et al.* **Diseño de un sistema de instrumentación y monitoreo de las variables en el proceso de dosificación de carbonato de calcio (CaCO3) para la producción de panela**. *Revista Matices Tecnológicos*, 6, 18-23 p., 2014.

CUEVAS REYES, V., BACA DEL MORAL, J., BORJA BRAVO, M., *et al.* **Agricultura familiar y tecnología para la elaboración de piloncillo granulado en la comunidad de Aldzulup Poytzén, San Luis Potosí**. *Nova Scientia*, 9 (19), 481 – 501 p., 2017.

DAQUINTA-G; PÉREZ-O; MENÉNDEZ-R, D; TERRY-S; & FERNÁNDEZ-S, M. **Flujograma de corte para la cosecha mecanizada. Revista Ingeniería Agrícola,** 18-24 p., 2018.

DEBERNARDI DE LA VEQUIA, H., ORTIZ LAUREL, H., ROSAS CALLEJA, D. **Energía disponible a partir de biomasa de residuos de caña de azúcar** (*Saccharum* spp.). *Agroproductividad*, 9 (7), 68-73 p., 2016.

DELGADO MORA, I., SUAREZ, H., VERA, A., *et al.* **Influencia de la edad y cultivar de caña de azúcar en el momento de la cosecha**. *Centro Agrícola*, 43 (2), 59-65 p., 2016.

DEMERA LUCAS, F., ALMEIDA VERA, A., MOREIRA PALACIOS, J., *et al*. **Clarificación del jugo de caña de azúcar (*Saccharum officinarum L.*) mediante el empleo de mucílagos naturales**. *Revista Alimentos Hoy*, 23 (36), 51-61 p., 2015.

ESCOBAR ARCOS, J. **Producción de cubos saborizados de panela y su incidencia en los ingresos económicos en el centro de acopio Tarqui de la asociación de cañicultores de Pastaza (Asocap)**. Tesis para obtener el título como magister en gestión de la producción agroindustrial. Universidad Técnica De Ambato. Ambato, Ecuador, 150 p., 2014.

FLÓREZ MARTÍNEZ, D. **Agenda prospectiva de investigación de la cadena productiva de la panela y su agroindustria**. *Tecnura*, 17 (36), 72-86 p., 2013.

FLOREZ MORENO, A. **Turismo cultural como detonante del desarrollo urbano de las ciudades medias. Ruta de la panela en Villeta Cundinamarca.** Tesis para optar por el título de arquitectura. Universidad de Bogotá, Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia, 77 p., 2018.

GUERRERO USEDA, M., ESCOBAR GUZMÁN, J. **Eficiencia técnica de la producción de panela**. *Revista de Tecnología*, 14 (1), 107-116 p., 2015.

GUTIÉRREZ MOSQUERA, L., ARIAS GIRALDO, S., CEBALLOS PEÑALOZA, A. **Actualidad del sistema productivo tradicional de panela en colombia: análisis de mejoras y alternativas tecnológicas**. *Ingeniería y Competitividad*, 20 (1), 107 - 123 p., 2018.

JURADO VALENCIA, J. **Rentabilidad económica, beneficios ambientales y sociales en el cultivo de caña de azúcar orgánica del proyecto Ebenezer en el municipio de Santander de Quilichao**. Tesis de Economía. Universidad del Valle, Cali, Colombia, 76 p., 2015.

LEAL MEDINA, G. **Selección de Bacterias Aerobias Formadoras de Endospora (BAFEs) con capacidad de promoción de crecimiento vegetal, provenientes de cultivos de caña panelera con manejos agronómicos contrastantes**. Tesis para optar por el título de Magister en Ciencias Microbiología, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia, 131 p., 2017.

LEGUIZAMON SIERRA, G., YEPES GONZALEZ, N. **Estudio Descriptivo mediante Análisis Multicriterio de la Cadena Agroalimentaria de la panela**. *Revista Especializada en Ingeniería*, 161-182 p., 2013.

LIZARAZO RUIZ, J., GAMBOA CONTRERAS, W., LÓPEZ CHACÓN, L. **Estudio de materiales para empaque de panela**. *Revista Matices Tecnológicos*, 6, 11-17 p., 2014.

LÓPEZ BRAVO, E., ANDRADE RIVERA, A., HERRERA SUÁREZ, M., *et al*. **Propiedades de un compost obtenido a partir de residuos de la producción de azúcar de caña**. *Centro Agrícola*, 44 (3), 23-49 p., 2017.

LÓPEZ LOPERA, J. **Manejo agronómico del cultivo de la caña de azúcar para panela en Antioquia**. Bogotá, Colombia, 131 p. ISBN 978-958-40-204-9. 2015.

LÓPEZ MARTÍNEZ, A., BOLIO LÓPEZ, G., VELEVA, L., *et al*. **Obtención de Celulosa a Partir de Bagazo**. *Agroproductividad*, 9 (7), 41-45 p., 2016.

MARRERO DELANGE, D., CORA MEDINA, M., LAGUNA GRANJA, A., *et al*. **Caracterización espectroscópica del D-003**. Revista Cubana de Farmacia, 47 (3), 389 – 399 p. 2013.

MORALES RAMOS, V., OSORIO MIRÓN, A., RODRÍGUEZ CAMPOS, J. **Innovaciones en el trapiche panelero la producción de panela granulada**. *Agroproductividad*, 10 (11), 10 p. 2017.

MURCIA PARDO, M., RAMÍREZ DURÁN, J. **Reconversión del sistema regional de producción de semilla de caña para la agroindustria panelera en Boyacá y Santander**. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, 18 (1), 75-87 p. 2017.

ORDOÑEZ DÍAZ, M., RUEDA QUIÑÓNEZ, L. **Evaluación de los impactos socioambientales asociados a la producción de panela en Santander (Colombia)**. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria,* 18 (2), 379-396 p. 2017.

PALACIOS CORREDOR, L., ORJUELA, A., NARVÁEZ RINCÓN, P, *et al*. **Spray drying of sugarcane honeys (*Saccharum officinarum* L.) without additives.** *Agronomia Colombiana*, 34(1), 34 p., 2016.

PALMA LÓPEZ, D., ZAVALA CRUZ, J., CÁMARA REYNA, J., *et al*. **Uso de residuos de la agroindustria de la caña de azúcar (*Saccharum* spp.) para elaborar abonos orgánicos**. *Agroproductividad*, 9 (7), 29-34 p. 2016.

PARDO SANTAMARÍA, J. **Aportes de la psicología del comportamiento del consumidor aplicadas a la industria panelera en el análisis de la campaña publicitaria, el efecto Panela**. Universidad de la Salle, Bogotá, Colombia, 28 p. 2016.

QUEZADA, F., QUEZADA TORRES, W., MOLINA BORJA, F. **Agroindustria panelera: alternativa para su intensificación**. *KnE Engineering*, 19-27 p. 2017

QUEZADA MORENO, W., GALLARDO AGUILAR, I., TORRES, M. **El color en la calidad de los edulcorantes de la agroindustria panelera**. *Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*, 73 (573), 26-30 p. 2016.

RAMÍREZ GÓMEZ, C, RODRÍGUEZ ESPINOZA, H. **Influencia de los recursos y las dinámicas del territorio en el sostenimiento de la agroindustria rural panelera de Supía**, **Caldas**. *Luna Azul*, 188-210 p. 2016.

RAMÍREZ SUÁREZ, A., ARENAS MEJÍA, L. **Tipificación técnica y socioeconómica de trapiches paneleros en el municipio de Ocamonte, Santander: una aplicación de análisis multivariado**. *Lebret*, 8, 243-261 p. 2016.

RESTREPO SALAS, M. **Empaque para comercialización de la panela redonda tipo exportación hacia los Estados Unidos**. Tesis de posgrado diseño industrial. Universidad Católica de Pereira, Pereira, Colombia, 123 p. 2013.

RODRÍGUEZ PÉREZ, B., CONTRERAS MOYA, A., DOMÍNGUEZ ROSA, E. **Comparación ambiental de la generación de energía eléctrica a partir del bagazo y *fuel oil***. *ICIDCA. Sobre los derivados de la Caña de Azúcar*, 48 (3). 70-79 p. 2014.

ROJAS ROJAS, W. **Modelo de negocio de exportacion de panela orgánica a Italia. Tesis para optar por el título de profesional en negocios internacionales**. Universidad Piloto de Bogotá, Bogotá, Colombia, 189 p. 2014.

ROLDÁN SUÁREZ, E., RENDÓN MEDEL, R., CAMACHO VILLA, C., *et al*. **Gestión de la interacción en procesos de innovación rural**. *Corpoica Cienc Tecnol Agropecuaria*, 19 (1), 15-28 p. 2016.

ROLZ, C. **La produccion de etanol del bagazo de la caña de azucar: tecnologia 2G**. *Revista 35 de la Universidad del Valle de Guatemala*, 33-40 p. 2017.

RUGE RUGE, I., PÉREZ HOLGUÍN, W. **Diagnóstico tecnológico del uso de dispositivos programables en la industria boyacense. Caso de estudio: cadena agroindustrial de la panela.** *Revista Tecnura*, 21 (52), 130-140 p. 2017.

SABLÓN COSSIO, N., PÉREZ QUINTANA, M., ACEVEDO SUÁREZ, J., *et al*. **La integración en la cadena agroalimentaria de panela en el Puyo-Ecuador**. *Cultivos Tropicales*, 37 (4), 128-135 p. 2016.

SÁNCHEZ SOTO, S. **Aves rapaces asociadas a linderos arbóreos adyacentes a cultivos de caña de azúcar (*Saccharum* spp.) en la Chontalpa, Tabasco**. *Agroproductividad*, 9 (7), 3-7 p. 2016.

SANTÍN SÁNCHEZ, M. **Evaluación del contenido de acrilamida durante el procesamiento de panela granulada y propuesta de reducción**. Tesis para optar el título de Ingeniero Industrial y de Sistemas. Universidad de Piura, Piura, Perú, 115 p. 2018.

TENORIO DAGUA, D. **Proyecto, mejoramiento de la cadena de la agroindustria panelera, con 25 familias de productores del resguardo indígena de Munchique los tigres, municipio de Santander de Quilichao, Cauca, Colombia**. Tesis para optar por el título en Administración de Empresas Agropecuarias, Universidad Santo Tomas. Cali, Colombia, 55 p. 2016.

VALERO-A, J; ÁVILA-T, A; MORENO-L; & MONTES-B, D. **Costo de producción de panela en un trapiche artesanal**. Red Nacional de Semileros de Investigacion, 2177-2182. 2014.

VALLEJO TELJIS, J. **Promover al mercado consumidor mediante un estudio de factibilidad para la implementación de una fábrica de panela purificada con diseños innovadores ubicada al noroccidente del distrito metropolitano de Quito**. Tesis para obtener el título de Tecnólogo en Administración Bancaria y Financiera. Instituto Tecnológico Cordillera. Quito, Perú, 201 p. 2014.

VILLARREAL YÉPEZ, Y. **El fortalecimiento de la cadena productiva de la caña de azúcar y sus derivados de las parroquias Chical y Maldonado y el fomento a las exportaciones.** Tesis para optar por el título de ingeniera en comercio exterior y negociación comercial internacional. Universidad Politécnica Estatal del Carchi. Tulcán, Ecuador, 168 p. 2017.

CAPÍTULO 18

REVISÃO: BIOINSUMOS NA CULTURA DA SOJA

Data de aceite: 19/07/2022
Data de submissão: 18/07/2022

Luiz Alberto Melo de Sousa
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha - MA
http://lattes.cnpq.br/4039999947043150

Fernando Freitas Pinto Junior
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/2110652316121025

Janine Quadros Castro
Graduando do Curso de Engenharia Agrícola, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/6973661280730132

Fabiola Luzia de Sousa Silva
Graduando do Curso de Biológia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/4527314930415453

Karolline Rosa Cutrim Silva
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/6986091269135957

João Lucas Xavier Azevedo
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/7680469634159307

Igor Alves da Silva
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/4544811005571429

Maria Raysse Teixeira
Graduando do Curso de Agronomia, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
Chapadinha – MA
http://lattes.cnpq.br/9511862317040773

Lídia Ferreira Moraes
Engenheira Agrônoma, Mestranda em Ciências Ambientais, Centro de Ciências de Chapadinha - CCCh, Programa de pós-graduação em Ciências Ambientais - PPGCAM, Cidade: Chapadinha-MA, Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
http://lattes.cnpq.br/1998856441237863

Raissa Rachel Salustriano da Silva-Matos
Doutora em Agronomia, Professora do Curso de Agronomia, Centro de Ciências de Chapadinha, Cidade: Chapadinha - MA (CCCh), Universidade Federal do Maranhão (UFMA)
http://lattes.cnpq.br/0720581765268326

RESUMO: O Brasil se tornou um gigante mundial da alimentação tropical, ocupando o lugar de maior produtor de soja do mundo responsável por 50% do mercado mundial do grão, o grande impulsionador deste avanço está relacionado ao aumento da tecnologia no melhoramento de sementes, fertilizantes, defensivos agrícolas, máquinas e implementos. Dentre esses

impulsionadores está a utilização de bioinsumos como alternativa de baixo custo e grande eficiência possuindo um alto potencial. Com isso os bioinsumos ganham cada vez mais espaço e notoriedade, atuando como um importante e quase indispensável agente biológico de controle podendo atuar no controle de pragas nematoides e etc. atuando também como bioestimulantes de crescimento das plantas, atua permitindo o aumento da divisão celular e otimizar a absorção de água e nutrientes minerais, essenciais para a produtividade das plantas. Existe ainda os biofertilizantes, que contém princípios ativos ou substâncias orgânicas obtidas a partir de microrganismos ou de suas atividades, bem como derivados de sua origem vegetal e animal, e os inoculantes biológicos responsáveis por atuarem no processo de fixação biológica do nitrogênio atmosférico (N_2) no solo, e convertê-lo em formas que podem ser utilizadas pelas plantas. Diante do exposto vemos que a utilização de bioinsumos é uma realidade que vem ganhando mais espaço no país, não só pelos seus benefícios que influenciam a produtividade, com também pela redução de custos na produtividade. o Brasil caminha para ser a maior referência a nível mundial no que diz respeito à utilização de bioinsumos na agricultura, isso se dá devido ao seu grande potencial de biodiversidade e geodiversidade.
PALAVRAS-CHAVE: Biofertilizantes; Inoculantes biológicos; bioestimulantes.

1 | INTRODUÇÃO

Com o atual crescimento e a modernização do agronegócio, o Brasil se tornou um gigante mundial da alimentação tropical, ocupando o lugar de maior produtor de soja do mundo, sendo responsável por 50% do mercado mundial desse grão (ARTUZO et al., 2018; EMBRAPA, 2021a). Os grandes influenciadores deste avanço na produção de soja, estão relacionados ao aumento da tecnologia no melhoramento de sementes, fertilizantes, defensivos agrícolas, máquinas e implementos (SILVA, 2018).

A intensificação da produção está sujeita a pressões estruturais, tais como: aumento populacional; aumento da renda e do consumo; necessidade de conservar os recursos hídricos e terrestres; políticas agrícolas e legislação ambiental e florestal. Embora tenha certas limitações, o aumento da produção em escala nacional e global é baseada na minimização dos impactos ambientais à medida que se aumenta os lucros e a intensifica a produtividade (MARQUES, 2018; EMBRAPA, 2018).

Dentre as diversas medidas criadas com objetivo de sanar esses desafios está a utilização dos bioinsumos, que além de proporcionar benefícios como: fixação de nitrogênio; controle de doenças; promover de crescimento; realizar o controle de nematoides e patógenos maléficos as plantas, atua na (SILVA-ABUD et al., 2021). Atrelado a esses benefícios está a redução de gastos com a utilização de agrotóxicos em áreas de cultivo (SILVA, 2016).

O uso de produtos biológicos tem crescido de maneira significativa. Isso se deve ao fato da grande demanda por produtos menos agressivos ao meio ambiente e aos organismos não-alvos, evitando assim menor seleção de populações resistentes aos inseticidas

químicos. Os bioinseticidas apresentam menor risco que os inseticidas convencionais, em países como EUA e recentemente o Brasil, vem ocorrendo um processo de registro para os produtos de menor impacto ao ambiente em decorrência de menos dados toxicológicos (BUENO et al., 2022).

Os inoculantes de origem biológica podem ser considerados uma tecnologia que aumenta a fauna microbiológica nos sistemas de produção da soja, promovendo a qualidade do solo, devido a diminuição do uso de fertilizantes químicos quanto pela adição de microrganismos benéficos (OLIVEIRA PAIVA, 2022). Em áreas de soja os bioinsumos para controle de pragas e doenças, na safra de 2019/2020 foi de 13,3 milhões de hectares, tendo a soja como a cultura de maior consumo de biodefensivos por área total (SILVA, 2021).

Tendo em vista a importância econômica da oleaginosa e considerando os benefícios da utilização de bioinsumos para um significativo aumento da produtividade, este trabalho tem como objetivo apresentar a influência destes na cultura da soja.

2 | REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Caracterização dos bioinsumos

No atual cenário da agricultura onde as inovações tecnologias avançam cada vez mais com o objetivo de aprimorar, rentabilizar e otimizar a produtividade no campo (DOS SANTOS et al., 2019), os bioinsumos ganham cada vez mais espaço e notoriedade, uma vez que, constituem uma importante promessa tecnológica para agricultura almejando uma agricultura mais sustentável. Considerando que as soluções inovadoras presentes dentro deste pacote tecnológico possibilitam suprir a demanda por parte dos consumidores junto ao setor produtivo, buscando alternativas viáveis para minimizar o alto uso de agroquímicos e agrotóxicos que possuem altos valores do ponto de vista econômico, além das consequências ambientais e de saúde (VIDAL et al., 2020).

O termo Bioinsumos, como o próprio nome sugere, se refere a insumos de origem biológica, seja animal, microbiana ou vegetal que influenciam positivamente no desempenho e produção de sistemas agropecuários aquáticos e florestais (EMBRAPA, 2021b).

O Programa Nacional de Bioinsumos realizado em maio de 2020 pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estabelecido pelo Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020, apresentou um conceito mais abrangente a fim melhor descrever o que são bioinsumos (MAPA, 2021). O conceito de bioinsumos apresentado no Programa Nacional de Bioinsumos, conforme Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020, menciona:

> “Bioinsumo é todo produto, processo ou tecnologia de origem vegetal, animal ou microbiana, destinado ao uso na produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agropecuários, nos sistemas de produção aquáticos ou de florestas plantadas, que interfiram positivamente no

> crescimento, no desenvolvimento e no mecanismo de resposta de animais, de plantas, de microrganismos e de substâncias derivadas e que interajam com os produtos e os processos físico-químicos e biológicos".

Nesse contexto, se evidencia a importância dos bioinsumos para toda a cadeia produtiva de alimentos, se colocando como uma alternativa de suma importância para os sistemas sustentáveis de produção, bem como a sua relação com a sanidade vegetal uma vez que as plantas e animais no geral estão intimamente conectados e dependem de bactérias e fungos, componentes dos solos saudáveis, para sobrevivência (MEDEIROS; ESPINDOLA, 2018; FAO, 2021).

Em virtude do supracitado, os bioinsumos podem ser definidos como uma ferramenta promissora à agricultura e ao meio ambiente (MSIMBIRA; SMITH, 2020; HESHAM et al., 2020), pois contribuem com o aumento da diversidade microbiana do solo, colonizam a rizosfera ou o interior da planta, possuem ação indireta no biocontrole de patógenos e melhoram a qualidade do solo (CHOUHAN et al., 2021; REZENDE et al., 2021), passando a fazer parte das estratégias de gestão agrícola mais eficientes e sustentáveis (WEETMAN, 2016).

2.2 Agentes biológicos de controle

As práticas sustentáveis com os desenvolvimentos integrados utilizando os microrganismos no manejo agrícola visa melhorar o aproveitamento de nutrientes, reduzir doenças e pragas, diminuir o uso de produtos químicos, além de melhorar a produtividade das culturas (BHATTACHARYYA, 2016). A simbiose que acontece entre microrganismos e plantas é altamente complexa, simultânea e dependente de uma série de fatores, sendo seu estudo de fundamental importância (BARBOSA et al., 2014).

O manejo de nematoides na cultura da soja é uma atividade árdua e deve integrar diversos métodos, avistando a diminuição da intensidade do parasita nas culturas (KATH et al., 2017). Os principais métodos de manejo de nematoides são a destruição de resíduos de culturas, rotação de culturas, uso de cultivares ou híbridos resistentes, controle químico e biológico com nematicidas (BRAGA, 2021).

O controle químico é o mais utilizado, entretanto, apesar de sua eficiência, muitas vezes, esses produtos são altamente tóxicos. Alguns nematicidas químicos vêm sendo retirados do mercado ou seu uso restringido, impulsionando o crescente uso do controle biológico, aumentado também pela preocupação e cuidados com o meio ambiente (BORTOLINI et al., 2013). Esses tipos de produtos podem manter-se no solo, contaminando os lençóis freáticos, trazer risco à saúde humana e à fauna, além de apresentarem alto custo e eficiência temporária (OLIVEIRA et al., 2019). A capacidade dessas substâncias de causar alguns efeitos irão depender do seu acúmulo, e maneira de administração (BRAIBANTE et al, 2012).

A utilização do controle biológico apresenta inúmeros benefícios quando

comparados com os químicos, pois não contamina, não desequilibra o meio ambiente, nem deixa resíduos, além de ser acessível economicamente e de fácil aplicação (NUNES et al., 2010; TORLADO, 2018). Os organismos dispõem de uma grande quantidade de organismos capaz de repelir, inibir ou mesmo levar à morte os fitonematoides. Podem reduzir as populações de nematoides fitopatogênicos e geralmente estão associados ao sistema radicular das plantas em solos com alto teor de matéria orgânica, favorecendo a degradação dos resíduos vegetais e a ciclagem de nutrientes (OLIVEIRA et al., 2019).

Diversas espécies possuem a capacidade de controle de fitonematoides, entre elas, fungos, bactérias, outros nematoides, ácaros predadores e outros, sendo que os principais microrganismos para o controle biológico de nematoides são as bactérias e os fungos (BRAGA, 2021; FINKLER, 2011).

2.3 Bioestimulantes

Os bioestimulantes são substâncias de caráter natural ou sintético, provenientes da mistura de dois ou mais biorreguladores vegetais, tais como as auxinas, giberelinas, citocininas, retardadores e inibidores, além de substâncias como aminoácidos, nutrientes e vitaminas, podendo ser aplicado por meio de contato direto a cultura ou via tratamento de sementes (BUCHELT et al., 2019). Tais mecanismos possuem potencial de estimular o crescimento das plantas, permitir o aumento da divisão celular e otimizar a absorção de água e nutrientes minerais, de grande essencialidade na produtividade das plantas, além de provocar alterações estruturais que são responsáveis pelo aumento do vigor das sementes (DOURADO NETO et al., 2004; SILVA et al., 2008; BERTOLIN et al., 2008).

Entre os bioestimulantes usados na agricultura, estão aqueles derivados da alga marinha *Ascophyllum nodosum* (L.), que vem dos mares Ártico e Atlântico Norte em condições ambientais extremas (CRAIGIE, 2011; KHAN et al., 2012). A variedade de compostos presentes no extrato de algas marinhas afeta as funções metabólicas da soja, ajudando a melhorar os sinais químicos, enquanto as plantas superam as condições climáticas e administram. Deste modo, frente aos entraves que a cultura sofre frente ao sistema de produção, a utilização de bioestimulantes, podendo ser incrementada pela utilização destes compostos, garantindo vantagens na síntese de foto assimilados e enchimento de grãos (GEHLING et al., 2017).

Em culturas como o algodão, foi observado que os bioestimulantes tendem a aumentar a porcentagem de emergência das plântulas e a velocidade de crescimento radicular, além de originar plântulas mais vigorosas. Na soja, foi mostrado que os mesmos podem influenciar a germinação e a biomassa da matéria seca das sementes e promover o crescimento das plantas em altura (SANTOS, et al., 2013). No feijão, quando o bioestimulante é aplicado via semente, proporciona uma melhor uniformidade de germinação, apresentando raízes mais vigorosas e uma maior produção de vagens (SILVA, 2019).

O emprego de reguladores de crescimento sobre a germinação e o crescimento

das mudas de espécies frutíferas, de modo isolado, já vêm sendo desenvolvidos a algum tempo e recentemente, em associação com outros reguladores e com o emprego de bioestimulantes, esses estudos têm aumentado (SCALON et al., 2009).

Lacerda et al. (2020) comentam que a produção de mudas de qualidade é uma das etapas mais importantes do sistema produtivo, influenciando diretamente no crescimento e na produtividade da planta. Acrescentam ainda que os reguladores de crescimento, quando aplicados durante os estádios iniciais de desenvolvimento da planta além de promover o estabelecimento de plantas de forma rápida e uniforme, promove um aumento na resistência a insetos, pragas, doenças e nematoides,

Segundo Silva (2019), a descoberta dos efeitos desses reguladores vegetais sobre as plantas cultivadas e os benefícios promovidos, têm contribuído na solução de problemas do sistema de produção e melhora qualitativa e quantitativamente a produtividade das culturas. A mesma, comenta ainda que os bioestimulantes não possuem uma categoria bem definida perante a legislação. No entanto, isso não impede de ser ofertado junto ao produtor, porém os reais efeitos promovidos por esses produtos não podem ser totalmente esclarecidos em níveis regulatórios.

2.4 Biofertilizantes

Os biofertilizantes tratam-se de subprodutos gerados a partir do processo de fermentação anaeróbica de resíduos provenientes da agricultura ou de material fecal de animais na geração de biogás. Aquele em sua forma líquida possui uma gama de nutrientes que são de suma importância para as plantas, o que inclui o nitrogênio e o fósforo; o biofertilizante também atua como fertilizante e defensivo agrícola, atuando no combate de doenças pragas e insetos (EMBRAPA, 2021c).

Os biofertilizantes, contém princípios ativos ou substâncias orgânicas obtidas a partir de microrganismos ou de suas atividades, bem como derivados de sua origem vegetal e animal, que atuam direta ou indiretamente na totalidade ou em parte da planta cultivada para melhorar sua produtividade (VIDAL et al., 2020).

De acordo com Silva (2017) o uso de biofertilizante visa desenvolver a biodinâmica física e química objetivando a capacidade de reconstrução do solo e como consequência haverá maior sanidade das plantas além de melhorar fatores como a capacidade do solo produzir.

Cada vez mais os biofertilizantes, estão sendo utilizados seja para criar comunidades microbianas com atividade antagônica aos fitopatógenos do solo, seja para promover o crescimento de plantas de lavouras (VISCONTI et al., 2017). Existem muitos exemplos de preparações utilizadas como biofertilizantes, principalmente na agricultura orgânica. Desenvolvido pela Embrapa, o Hortbio® é um exemplo de fertilizante orgânico aeróbio aplicado na forma líquida, produto à base de subprodutos agrícolas, carboidratos e microrganismos do solo, além de promover uma série de benefícios devido às suas

propriedades agronômicas (PEREIRA, 2019; FONTENELLE et al., 2017).

2.5 Inoculantes biológicos

O termo inoculação diz respeito ao processo pelo qual é possível fixar o nitrogênio atmosférico (N_2) no solo, e convertê-lo em formas que podem ser utilizadas pelas plantas, permitindo a substituição do uso de adubos nitrogenados nas lavouras (LOPES, 2016). Tornando-se uma importante alternativa na redução de aplicação de fertilizantes nitrogenados (CARMO et al., 2020).

A Fixação biológica de Nitrogênio (FBN), é constituído por vários grupos filogenéticos bacterianos intitulados diazotróficos, reconhecido por possuir a enzima nitrogenase, a grande responsável por catalisar o N_2 e transformá-lo em amônia (NH_3) oferecendo assim N em formas disponíveis para as plantas (CARMO et al., 2020; VIEIRA, 2017).

O inoculante é o produto feito à base de microrganismos que pode promover o desenvolvimento de plantas (REIS, 2017). De acordo com o MAPA, inoculante é todo produto que possui em sua constituição microrganismos que oferecem benefícios ao crescimento das plantas, em geral são fungos, bactérias, protozoários, ácaros e outros (SCOPEL; ROZA-GOMES, 2011).

No Brasil, o uso de inoculantes contendo bactérias fixadoras de nitrogênio (FBN) do gênero *Bradyrhizobium* spp. tem se tornado cada vez mais usado, e quase indispensáveis para as culturas, isso se deve principalmente ao fato de sua capacidade de reduzir de forma significativa os gastos com fertilizantes químicos (ALMEIDA, 2017; CAVALCANTE, 2017; MARKS, 2013).

Algumas técnicas, conhecidas como coinoculação, que utilizam misturas de microrganismos diferentes porém com um certo sinergismo no efeito final, a exemplo da mistura de bactérias do gênero Bradyrhizobium com bactérias do gênero *Azospirillum*, essa interação apresenta efeitos benéficos devido a simbiose existente entre as estirpes, as rizobactérias atuam solubilizando fosfato e gerando hormônios vegetais além de aumentar as atividades enzimáticas, enquanto isso, o *Azospirillum* atua no desenvolvimento e crescimento das plantas (BENETTI, 2017; SILVA-ABUD et al., 2021; HUNGRIA, 2011).

Considerando que os fertilizantes químicos mais usados como uréia, que são caracterizados por serem altamente voláteis e acabam sendo perdidos rapidamente por volatilização e lixiviação, com isso oferecem sérios riscos para o ambiente como a eutrofização de rios, lagos e mananciais, com isto, a melhor alternativa é a substituição dos fertilizantes químicos pelos de origem biológica (SILVA, 2016).

2.6 Bioinseticidas

Os insetos pertencem ao filo dos artrópodes e, devido ao seu processo de evolução e especialização, tornaram-se altamente adaptáveis a diferentes condições ambientais; além disso, apesar de boa parte das espécies serem benéficas para o homem e para

regulação dos ecossistemas, uma porcentagem é considerada nociva à saúde humana e a outra pode tornar-se praga; isso quando a sua população se encontra em desequilíbrio, principalmente em decorrência do desmatamento, monoculturas, criação intensiva de animais, superpopulação humana, condições inadequadas de escoamento de águas e de remoção de dejetos e lixos (FINKLER, 2012).

Nesse contexto, Silva et al. (2022) ressaltam a interferência negativa dos insetos-pragas na produção de alimentos no mundo e como a presença dos mesmos resulta em prejuízos anuais significativos aos produtores; sendo que a mitigação de tal situação por meio do controle químico, especialmente quando os produtos são aplicados em quantidade e forma inadequadas, pode resultar em danos à saúde humana e ao meio ambiente, como a contaminação de solos, rios, lagos e lençóis freáticos.

Além disso, levando-se em consideração as técnicas de controle químico difundidas para aumentar a produtividade, que o Brasil apresenta uma grande extensão de área agrícola e que está entre os principais países produtores do globo, percebe-se que desde 2008 o mesmo é considerado o maior consumidor de agrotóxicos do mundo, ampliando o uso de 2,7 $kg.ha^{-1}$ em 2002 para 6,9 $kg.ha^{-1}$ em 2012, um aumento de 155% em um espaço de 10 anos (MOISÉS et al., 2011; RUTHS; SIMCH, 2021).

Dessa forma, como uma alternativa para amenizar os impactos negativos causados por defensivos químicos, tem-se o controle biológico realizado por microrganismos, o qual vem mostrando-se promissor no combate à proliferação de pragas e vetores; o mesmo consiste na utilização de entomopatógenos como componentes ativos dos inseticidas biológicos, tratando-se de uma prática que resulta em menor risco para a saúde humana e ambiental por conta da sua especificidade para os insetos-alvos (BUENO et al., 2011; LACEY et al., 2015; SILVA et al., 2022).

Com relação a sua utilização, os bioinsumos vêm tornando-se popular por serem uma alternativa viável aos agroquímicos em diversos aspectos, como o surgimento de pragas resistentes a muitos inseticidas sintéticos; o aumento na demanda pública por frutas e vegetais orgânicos; as regulamentações sobre limites máximos de resíduos desses produtos na produção e as preocupações sobre o impacto ambiental e efeitos nocivos a organismos não alvo associados ao uso de inseticidas sintéticos (DARA, 2017; PREININGER et al., 2018; GLARE; O'CALLAGHAN, 2019; LÊDO et al., 2021).

No passado, muitos produtos biológicos não apresentavam uma boa eficácia e eram mais caros que os químicos, contudo, tais produtos melhoraram seu desempenho e reduziram os custos; a exemplo tem-se o bioinseticida bacteriano da espécie *Bacillus thuringiensis* (Bt), que por conta da sua eficácia e especificidade de suas toxinas no controle de insetos praga, favoreceu a formulação de biopesticidas a base deste patógeno (POLANCZYK; ALVES, 2003).

A introdução e utilização de produtos à base da bactéria Bt no Brasil teve início na década de 1960, onde passou a ganhar maior visibilidade e destaque desde então

(CAPALBO et al., 2005; YOKOTA et al., 2021). A sua atividade entomopatogênica está ligada à produção de cristais proteicos chamados de delta-endotoxinas que possuem ação inseticida e específica para ordem Lepidoptera (ARAÚJO *et al.*, 2019).

Além das bactérias, também são utilizados no Brasil bioinseticidas formulados a partir de fungos entomopatogênicos, como a *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* e *Isaria fumosorosea* (BRASIL, 2021); onde o seu uso associado ao manejo integrado de pragas tem apresentado um crescimento expressivo nos últimos anos (PARRA; COELHO JR, 2019).

Outro grupo de entomopatógenos que têm sido amplamente utilizados em vários países do mundo são os vírus, e têm ganhado maior incremento principalmente em razão da sua proteção em cristais proteicos; possibilitando a formulação de produtos com tecnologia de aplicação simples e segura quando comparados aos inseticidas químicos (YOKOTA et al., 2021). Existem mais de 20 grupos de vírus que são patogênicos aos insetos e dentre eles, o *Baculovírus* é o grupo, mas estudado e comum com maior potencial para ser utilizado como agente de controle biológico de pragas (MARTIGNONI; IWAI, 1986; YOKOTA et al., 2021).

Desse modo, como há uma busca crescente do consumidor por produtos sem agroquímicos, um aumento significativo do mercado de produtos orgânicos, o desenvolvimento de um sistema de produção agrícola mais sustentável e a regulamentação governamental para registro de bioinsumos são alguns fatores de mercado que favoreceram a difusão e adesão dos bioinseticidas como insumos agrícolas.

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Atualmente tem-se notado um grande avanço da agricultura e junto a ela surgem diversas alternativas que buscam o crescimento e aumento da produtividade, nesse contexto surgem os microrganismos com ações diversas e variadas apresentando ótima eficiência no seu uso, além de reduzir significativamente os gastos.

Diante do exposto vemos que a utilização de bioinsumos é uma realidade que vem ganhando mais espaço no país, não só pelos seus benefícios que influenciam a produtividade, como também pela redução de custos na produtividade.

Objetivando um maior crescimento do senário produtivo de melancias no país, esta pesquisa busca encontrar os bioinsumos mais adequados para uso e que ao mesmo tempo proporcionem maior ganho de produtividade ao passo que os gastos são reduzidos, sem deixar de lado a eficiência dos insumos em relação ao que se deseja produzir.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, I. V. D. **Resposta do feijão macassar e comum à inoculação com rizóbio e uso de biofertilizante em um agrossistema familiar**. 2017. 37 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2017.

ARAÚJO, I. D. S.; OLIVEIRA, G. M. D; LACERDA, L. B. D; BATISTA, J. D. L.; LOPES, G. N. Perspectivas atuais da utilização de bioinseticidas em S*podoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Meio Ambiente**, v. 7, n. 3, 2019.

ARTUZO, F. D.; FOGUESATTO, C. R.; SOUZA, Â. R. L. D.; SILVA, L. X. D. Gestão de custos na produção de milho e soja. **Revista Brasileira de Gestão de Negócios**, v. 20, n. 2, p. 273-294, 2018.

BARBOSA, J. Z.; CONSALTER, R.; VEZZANI, F. M.; MOTTA, A. C. V. Bactérias e fungos benéficos na endosfera das plantas. **Revista Agrogeoambiental**. v. 7, n. 3, 2015.

BENETTI, R. **Utilização de rizobactérias promotoras de crescimento em plantas em co-inoculação e na parte aérea da soja (*Glycine max*)**. 2017. 41 f. Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Agronomia) - Departamento de Estudos Agrários, Universidade Regional do Noroeste do Rio Grande do Sul, Ijuí, 2017.

BERTOLIN, D. C.; DE SÁ, M. E.; HAGA, K. Y.; ABRANTES, F. L.; NOGUEIRA, D. C. Efeito de bioestimulantes no teor e no rendimento de proteínas de grãos de soja. **Agrarian**,v. 1, n. 2, p. 23-34, 2008.

BHATTACHARYYA, P. N.; GOSWAMI, M. P.; BHATTACHARYYA, L. H. Perspectiva dos micróbios benéficos na agricultura sob a mudança do cenário climático: uma revisão. **Journal of Phytology**, v. 8, p. 26-41, 2016.

BORTOLINI, G. L.; ARAÚJO, D.; ZAVISLAK, F.; JUNIOR, J. R.; KRAUSE, W. Controle de Pratylenchus brachyurus via tratamento de semente de soja. **Enciclopédia Biosfera**,v. 9, n. 17, 2013.

BRAGA, A. F. **Interação de *Trichoderma asperellum* e *bacillus* spp. utilizados no controle biológico de doenças na soja**. 2021. 35 f. Dissertação (Mestrado em Bioenergia e Grãos) - Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2021.

BRAIBANTE, M. E. F.; ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química nova na escola**, v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.

BRASIL - Ministério da Agricultura e do Abastecimento. **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília, 2021.

BUCHELT, A. C.; METZLER, C. R.; CASTIGLIONI, J. L.; DASSOLLER, T. F.; LUBIAN, M. S. Aplicação de bioestimulantes e *Bacillus subtilis* na germinação e desenvolvimento inicial da cultura do milho. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 6, n. 4, p. 69-74, 2019.

BUENO, R. C. O. F.; BUENO, A. F.; MOSCARDI, F.; PARRA, J. R. P.; HOFFMANN-CAMPO, C. B. Lepidopteran larvae consumption of soybean foliage: basis for developing multiple-species economic thresholds for pest management decisions. **Pest Management Science, Sussex**, v. 67, n. 2, p. 170-174, 2011.

CAPALBO, D. M. F.; ARANTES, O.; SUZUKi, M. T. *Bacillus thuringiensis*. **Embrapa Meio Ambiente-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, v. 34, p. 78–85, 2005.

CARMO, K. B. G.; BOURSCHEIDT, M. G. M.; da SILVA, A. F.; FERREIRA, A. Desempenho agronômico do milho safrinha em resposta a doses de nitrogênio combinadas com inoculante biológico em Mato Grosso**. Scientific Electronic Archives.** v. 13, n. 7, p. 1-7, 2020.

CAVALCANTE, F.; MARTINS, C.; MARTINS, S. C. **Interações bióticas entre actinobactérias e rizóbios em solos da região semiárida brasileira. Enciclopédia biosfera**, v. 14, n. 26, 2017.

CHOUHAN, G. K.; JAISWAL, D. K.; GAURAV, A. K.; MUKHERJEE, A.; VERMA, J. P. PGPM as a potential bioinoculant for enhancing crop productivity under sustainable agriculture. In: RAKSHIT, Amitava et al. **Biofertilizers:** Advances in Bio-Inoculants. 1.ed. [S.l.]: Woodhead Publishing, 2021. p.221-237.

CRAIGIE, J. S. Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. **Journal of Applied Phycology**, v.23, n.3, p.371-393, 2011.

DARA, S. K. **Microbial control of arthropod pests in small fruits and vegetables in temperate climate**. *In*: Lacey, L. A. (Ed.), Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice. London: Elsevier Inc., 2017. p. 209-221.

Decreto nº 10.375, de 26 de maio de 2020. Institui o Programa Nacional de Bioinsumos e o Conselho Estratégico do Programa Nacional de Bioinsumos. Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2019-2022/2020/decreto/d10375.htm> acesso em 29 de Nov. de 2021.

DOS SANTOS, T. C.; ESPERIDIÃO, T. L.; DOS SANTOS A. M. AGRICULTURA 4.0. **Revista Pesquisa E Ação**, v. 5, n. 4, p. 122-131, 2019.

DOURADO NETO, D.; DARIO, G. J. A.; VIEIRA JÚNIOR, P. A.; MANFRON, P. A.; MARTIN, T. N.; BONNECARRÉRE, R. A. G.; CRESPO, P. E. N. Aplicação e influência do fitorregulador no crescimento das plantas de milho. **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, v. 11, n. 1, p. 1-9, 2004.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Biofertilizantes**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1gh4ku02wyiv802hvm3jd85f37c.html>. Acesso em: 25 nov. 2021b.

EMBRAPA. **Soja em números (safra 2020/21)** disponível em: **<** https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos**>.** Acesso em 27 de nov. 2021a**.**

EMBRAPA. **Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira.** – Brasília, DF: Embrapa, 2018.

EMBRAPA: **Hortaliças em Revista.** Disponível em:< file:///C:/Users/ty/Desktop/2021.2/Estagio%20 2021.2/HR-edicao-32.pdf >. Acesso em: 28 nov. 2021c.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **International Year of Planet Health.** Disponível em: <https://www.fao.org/plant-health-2020/about/en/> acesso em: 29 de nov. 2021.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, v. 8, p. 169-189, 2011.

FINKLER, C. L. L. Controle de insetos: uma breve revisão. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agronômica**, Recife, v. 8-9, p.169-189, 2012.

FONTENELLE, M.; LIMA, C.; BONFIM, C.; ZANDONADI, D.; BRAGA, M.; PILON, L.; RESENDE, F. Biofertilizante Hortbio®: propriedades agronômicas e instruções para o uso. **Embrapa Hortaliças: Brasília. Circular Técnica** Brasília, DF: Embrapa Hortaliças. 162, 11p. 2017.

GEHLING, V. M.; MAZON, A. S.; CAVALCANTE, J. A.; CORRÊA, C. D.; MENDONÇA, A. O.; AUMONDE, T. Z.; VILLELA, F. A. Desempenho fisiológico de sementes de soja tratadas com extrato de alga *Ascophyllum nodosum* (L.). **Revista da Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa-Congrega Urcamp**, p. 1200-1215, 2017.

GLARE, T. R.; O'CALLAGHAN, M. Microbial biopesticides for control of invertebrates: progress from New Zealand. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 165, p. 82-88, 2019.

HESHAM, A. E. L.; KAUR, T.; DEVI, R.; KOUR, D.; PRASAD, S.; YADAV, N.; YADAV, A. N. Current Trends in Microbial Biotechnology for Agricultural Sustainability: Conclusion and Future Challenges. In: YADAV, Ajar Nath et al. **Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture**. [S.l.]: Springer, 2020. p. 555-572.

HUNGRIA, M. Inoculação com Azospirillum brasilense: inovação em rendimento a baixo custo. **Embrapa Soja-Documentos (INFOTECA-E) Londrina: Embrapa Soja, 2011.**

KATH, J. **Mecanismo de controle de *Pratylenchus brachyurus* por *Trichoderma spp.* em soja e potencial para uso com indutores de resistência**. 2017. 46 f. Dissertação (mestrado em Agronomia) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2017.

KHAN, A. S.; AHMAD, B.; JASKANI, M. J.; AHMAD, R.; MALIK, A. U. Foliar application of mixture of amino acids and seaweed *Ascophylum nodosum* extract improve growth and physicochemical properties of grapes. **International Journal of Agriculture and Biology**, v.14, n.3, p.383-388, 2012.

LACERDA, E. G.; DE JESUS SANCHES, L. F.; QUEIROZ, J. O.; DA SILVA, C. P.; MENDONÇA, M. A.; DE MORAIS, J. U. G. Efeito do bioestimulante no desenvolvimento de mudas de maracujazeiro (*Passiflora alata*) em condições de canteiro. **Rev. Agr. Acad.**, v.3, n.2, Mar/Abr (2020).

LACEY, L. A.; GRZYWACZ, D.; SHAPIRO-ILAN, D. I.; FRUTOS, R.; BROWNBRIDGE, M.; GOETTEL, M. S. Insect pathogens as biological control agents: back to the future. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 132, n. 1, p. 1-41, 2015.

LÊDO, C. M.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. N.; OLIVEIRA, J. P.; DUARTE-NETO, J. M. W.; PORTO, A. L. F. Matrizes poliméricas para encapsulação de bioinseticidas. **Pesq. agropec. pernamb.**, Recife, v. 26, n. 1, 2021.

LOPES, K. D. S. **Avaliação da eficiência agronômica de inoculante para pré-inoculação de sementes de soja com tratamento químico até 20 dias antes do plantio**. 2016. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Gestão do Agronegócio) - Universidade de Brasília, Planaltina, 2016.

MAPA, Ministério da agricultura pecuária e abastecimento. **Conceitos: Conheça a base conceitual do Programa Nacional de Bioinsumos**. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inovacao/bioinsumos/o-programa/conceitos>. Acesso em: 28 de nov. 2021.

MARKS, B. B. **Ação de metabólitos secundários e de inoculantes microbianos na promoção do crescimento de soja (*Glycine max* (L.) Merr.) e milho (*Zea mays* L.)**. 2013. 121 f. Dissertação (Mestrado em microbiologia) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina. 2012.

MARQUES, L. **Capitalismo e colapso ambiental**. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2018. 736 p.

MARTIGNONI, M. E.; IWAI, P. J. A catalog of viral diseases of insects, mites, and ticks. US Department of Agriculture, **Forest Service, Pacific Northwest Research Station**, 4 ed., v. 195, 51 p., 1986.

MEDEIROS, C. A. B.; ESPINDOLA, J. A. A. Produção sustentável de alimentos. IN: **Embrapa Clima Temperado-Capítulo em livro científico (ALICE)**, 2018.

MOISÉS, M.; MACHADO, J. M. H.; PERES, F.; HENNINGTON, É.; BELTRAMI, A. C.; BELTRAMI NETO, A. C. Reflexões e contribuições para o Plano Integrado de Ações de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (MS) de Populações Expostas a Agrotóxicos. **Ciência & Saúde Coletiva**, Rio de Janeiro, v. 16, p. 3453-3460, 2011.

MSIMBIRA, L. A.; SMITH, D. L. The Roles of Plant Growth Promoting Microbes in Enhancing Plant Tolerance to Acidity and Alkalinity Stresses. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 4, n. 106, p. 1-14, July 2020.

NUNES, H. T.; MONTEIRO, A. C.; POMELA, A. W. V. Uso de agentes microbianos e químico para o controle de *Meloidogyne incógnita* em soja. **Acta Scientiarum, Agronomy**, v. 32, n. 3, p. 403 – 409, Maringá, 2010.

OLIVEIRA, K. C. L. D.; MENESES, A. C. D.; SILVA, J. M.; TAVARES, R. L; C. Manejo biológico de pratylenchus brachyurus na cultura da soja. **Revista Caatinga**, v. 32, n.1, pág. 41-51, 2019.

OLIVEIRA-PAIVA, C. A.; ALVES, V. M. C.; GOMES, E. A.; DE SOUSA, S. M.; LANA, U. D. P.; MARRIEL, I. E. Microrganismos solubilizadores de fósforo e potássio na cultura da soja. IN: **Bioinsumos na cultura da soja**. 2022. 163-179 p.

PARRA, J. R. P.; COELHO JÚNIOR, A. Applied biological control in Brazil: from laboratory assays to field application. **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 2, 2019.

PEREIRA, T. D S. **Potencial do extrato aquoso obtido de vermicomposto enriquecido com *Trichoderma* como estimulante do crescimento e controlador de nematoides em plantas de tomate e pimentão**. 2019. 102 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Brasília, Brasília, 2019.

POLANCZYK, R. A.; ALVES, S. *Bacillus thuringiensis*: uma breve revisão. **Agrociencia**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2003.

PREININGER, C.; SAUER, U.; BEJARANO, A.; BERNINGER, T. Concepts and applications of foliar spray for microbial inoculants. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlin, v. 102, p. 7265-7282, 2018.

REIS, V. M. Uso de bactérias fixadoras de nitrogênio como inoculante para aplicação em gramíneas. **Embrapa Agrobiologia-Documentos (INFOTECA-E)** Seropédica, RJ. 2007. 22p.

REZENDE, C. C.; SILVA, M. A.; FRASCA, L. D. M.; FARIA, D. R.; DE FILIPPI, M. C. C.; LANNA, A. C.; NASCENTE, A. S. Microrganismos multifuncionais: utilização na agricultura. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. 1-15, fev. 2021.

RUTHS, J. C.; SIMCH, F. B. L. Vigilância em saúde de populações expostas a agrotóxicos: revisão de escopo. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 2, 2021.

SANTOS, V. M. D; MELO, A. V. D; CARDOSO, D. P.; GONÇALVES, A. H.; VARANDA, M. A. F.; TAUBINGER, M. Uso de bioestimulantes no crescimento de plantas de *Zea mays* L. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.12, n.3, p. 307-318, 2013.

SCALON, S. de P. Q.; LIMA, A. A de; SCALON FILHO, H.; VIEIRA, M. do C. Germinação de sementes e crescimento inicial de mudas de *Campomanesia adamantium* camb.: efeito da lavagem, temperatura e de bioestimulantes. **Revista Brasileira de Sementes**, vol. 31, n. 2, p.096-103, 2009.

SCOPEL, W.; ROZA-GOMES, M. F. Programas de controle biológico no Brasil. **Unoesc & Ciência-ACET**, v. 2, n. 2, p. 215-223, 2011.

SILVA, C. J. C. Utilização de biofertilizante e NPK na cultura da soja. Trabalho de Conclusão de Curso. **Universidade Tecnológica Federal do Paraná**.2017.

SILVA, C. M. Entre Fênix e Ceres: A grande aceleração e a fronteira agrícola no Cerrado. **Varia História**, v. 34, n. 65, p. 409-444, 2018

SILVA, I. W. da. **Avaliação de microrganismos promotores de crescimento no tratamento de sementes de soja (*Glycine max* L.)**. 2016. 41 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Agronomia) Departamento de Estudos Agrários – DEAg, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, 2016.

SILVA, L. V. J. B.; SILVA, T. A. F.; OLIVEIRA, J. de P.; PORTO, A. L. F.; MARANHÃO, L. M. de A. C.; ANDRADE, B. R. D.; SILVA, M. L. R. B. Avaliação de toxicidade de *Bacillus thuringiensis* em diferentes condições de armazenamento. **Pesq. Agropec. Pernamb.**, Recife, v. 27, n. 1, 2022.

SILVA, M. B. **Programa Nacional de Bioinsumos: história, situação atual e perspectivas futuras**. 2021. 67 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) — Universidade de Brasília, Brasília, 2021.

SILVA, T. D. **Uso de biorreguladores e bioestimulantes na agricultura. Curitiba**. 2019. 45 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Fertilidade do Solo e Nutrição de Plantas) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. 2019.

SILVA, T. T. A.; VON PINHO, E. V. R.; CARDOSO, D. L.; FERREIRA, C. A.; ALVIM, P. O.; COSTA, A. A. F. Qualidade fisiológica de sementes de milho na presença de bioestimulantes. **Ciência Agrotecnologia**, 32(3), p. 840-846. 2008.

SILVA-ABUD, L. L.; FERRARI, G. S.; LIMA, V. M. M.; STIVAL, M. M. Coinoculação de Azospirillum brasilense e Bradyrhizobium japonicum no desenvolvimento da soja. **Scientific Electronic Archives,** v. 14, n. 7, p. 25–32, 2021. DOI: 10.36560/14720211328. Disponível em: https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/1328. Acesso em: 28 nov. 2021.

TORLADO, A. L. **Controle biológico e genético de Meloidogyne exigua em duas cultivares de café**. 2018. 27. Dissertação (Mestrado Profissional em Proteção de Plantas) – Instituto Federal Goiano - Campus Urutaí, 2018.

VIDAL, M. C.; SALDANHA, R.; VERISSIMO, M. A. A. **Bioinsumos:** o programa nacional e a sua relação com a produção sustentável. CDD 630.275, p. 382, 2020.

VIEIRA, R. F. **Ciclo do nitrogênio em sistemas agrícol**as. CDD (21.ed.). Brasília, DF: Embrapa, 2017. 163 p.

VISCONTI, A.; ZAMBONIM, F. M.; MARIGUELE, K. H.; LONE, A. B. Métodos alternativos para o controle de fitopatógenos habitantes do solo: Parte II – controle biológico. **Revista Agropecuária Catarinense, Florianópolis**, v.30, n.3, p.33-36, 2017.

WEETMAN, C. **Economia Circular: conceitos e estratégias para fazer negócios de forma mais inteligente, sustentável e lucrativa**. Autêntica Business, 2016.

YOKOTA, L. A.; LOUREIRO, E. S.; PESSOA, L. G. A.; DEVOZ, G. L. R.; PEREIRA FILHO, A. A.; AMARAL, T. S. Aplicação de entomopatógenos no manejo de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). **Brazilian Journal of Development**, Curitiba, v.7, n.5, p. 49283-49288, 2021.

SOBRE OS ORGANIZADORES

RAISSA RACHEL SALUSTRIANO DA SILVA-MATOS: Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade de Pernambuco - UPE (2009), Mestre em Agronomia - Solos e Nutrição de Plantas pela Universidade Federal do Piauí - UFPI (2012), com bolsa do CNPq. Doutora em Agronomia pela Universidade Federal da Paraíba - UFPB (2016), com bolsa da CAPES. Atualmente é professora adjunta do curso de Agronomia do Centro de Ciências (CCCh) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Tem experiência na área de Agronomia, com ênfase em fitotecnia, fisiologia das plantas cultivadas, propagação vegetal, manejo de culturas, nutrição mineral de plantas, adubação, atuando principalmente com fruticultura e floricultura.

LUIZ ALBERTO MELO DE SOUSA: Graduando em Agronomia pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Técnico em Agropecuária pela Casa Familiar Rural de Alto Alegre do Pindaré do Maranhão (CFR-AAP). Atualmente sou Diretor administrativo e de finanças da Startup "FrutimaTec: Conhecimento e Segurança para o fruticultor". Membro do Grupo Pesquisa em Fruticultura do Maranhão (Frutima) e do Grupo de Estudo e Pesquisa em Bioinsumos no Maranhão (BIOIMA). Desenvolvo pesquisas na área de Agronomia com ênfase em fitotecnia, propagação vegetal, produção e manejo de espécies vegetais, horticultura, fruticultura, proteção de plantas e promoção de crescimento vegetal com a utilização de bioinsumos. Lattes: http://lattes.cnpq.br/4039999947043150

RAIMUNDO CLEIDSON OLIVEIRA EVANGELISTA: Graduando em Agronomia pela Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Técnico em Agropecuária pelo Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Maranhão (IFMA). Atualmente é Diretor-presidente da Startup "FrutimaTec: Conhecimento e Segurança para o fruticultor". Desenvolve pesquisas na área de Agronomia, com ênfase em produção vegetal, horticultura, fruticultura, proteção de plantas e promoção de crescimento vegetal com a utilização de bioinsumos. Lattes: http://lattes.cnpq. br/5604372541250943.

ÍNDICE REMISSIVO

A

B

C

D

E

F

www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br
@atenaeditora
www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Investigación, tecnología e innovación EN CIENCIAS AGRÍCOLAS 3

Atena Editora
Ano 2022

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Investigación, tecnología e innovación

EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

3

Atena
Editora

Ano 2022